

**Über die Herstellung
von signiertem Glycerin und
damit durchgeführte
biologische Untersuchungen**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Heribert Wagner

aus Ravensburg, Deutschland

Basel 1952

Buchdruckerei Aargauer Tagblatt AG., Aarau



Digitized by the Internet Archive
in 2026

**Über die Herstellung
von signiertem Glycerin und
damit durchgeführte
biologische Untersuchungen**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde
vorgelegt der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Heribert Wagner

aus Ravensburg, Deutschland

Basel 1952

Buchdruckerei Aargauer Tagblatt AG., Aarau



**Genehmigt von der Philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der Herren Professoren**

Th. Reichstein und K. Bernhard

Basel, den 1. Juli 1952

Prof. W. Kuhn

Dekan

Meinem Onkel Dr. E. Wagner gewidmet

Herrn Prof. Dr. K. Bernhard möchte ich an dieser Stelle
für seine Unterstützung und die wertvollen Ratschläge
während dieser Arbeit danken

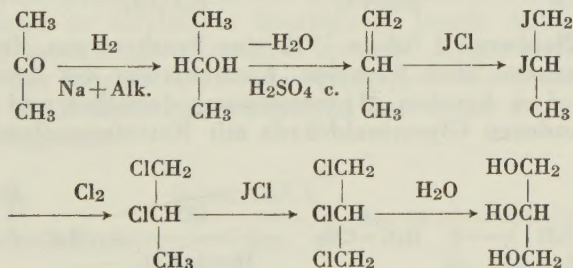
A. Allgemeiner Teil

1. Entdeckung und Strukturaufklärung

Bei der Hydrolyse von Olivenöl wurde das Glycerin von **Scheele**¹⁾ erstmalig im Jahr 1799 aufgefunden und wenig später erkannte **Chevreul**²⁾, dass es ein Bestandteil aller natürlichen Fette ist. **Pelouze**³⁾ stellte 1836 seine Zusammensetzung fest. Die Konstitution wurde hauptsächlich von **Berthelot**⁴⁾ und **Wurtz**⁵⁾ in den Jahren 1854—1857 aufgeklärt. Von dieser Zeit an hat das Glycerin allgemein das Interesse von Forschern chemischer und biochemischer Richtung erregt.

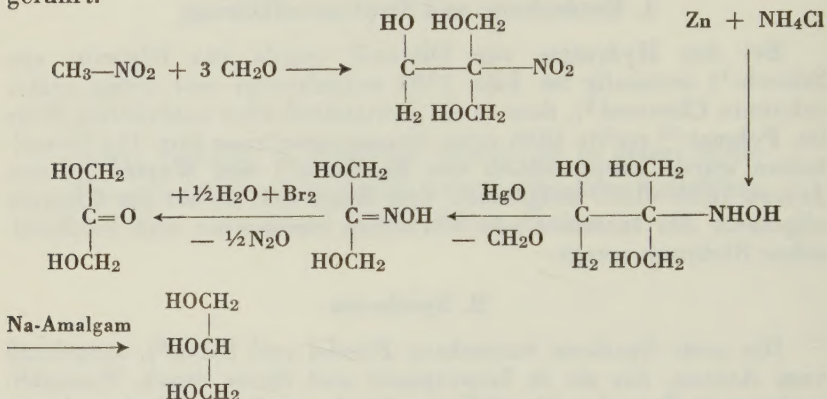
2. Synthesen

Die erste Synthese versuchten **Friedel und Sylva**⁶⁾, ausgehend vom Aceton, das sie in Isopropanol und dieses durch Wasserabspaltung in Propylen überführten. An dessen Doppelbindung lagerten sie mit Hilfe von Chlorjod Jod an und führten das Reaktionsprodukt durch Chlor in das 1,2-Dichlorpropan über. Diese Substanz wurde nun mit Chlorjod in Bombenröhren 8 Stunden auf 140° C erhitzt und nach Entfernen der gebildeten Salzsäure erneut unter den gleichen Konditionen behandelt. Hierbei bilden sich verschiedene isomere Trichlorpropane. Das Trichlorhydrin konnte durch fraktionierte Destillation nur in unreinem Zustande gewonnen werden. Durch Erhitzen mit Wasser geht es zum Teil in Glycerin über.

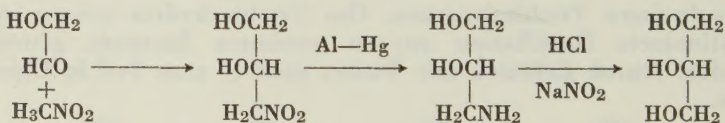


In neuerer Zeit haben Bloch, Erlenmeyer und Furger⁷⁾ auf einem ganz ähnlichen Wege Glycerin dargestellt.

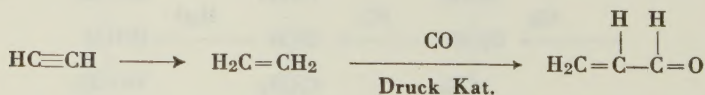
Eine zweite Totalsynthese führte Piloty⁸⁾ aus. Aus Formaldehyd und Nitromethan erhielt er Nitro-isobutyl-Glycerin⁹⁾ und durch Reduktion desselben die entsprechende Hydroxylaminverbindung. Sie wurde durch Einwirkung von Quecksilberoxyd unter Abspaltung von Formaldehyd in das Oxim des Dioxyacetons verwandelt, das weiter mit Brom unter Bildung von Dioxyaceton und N₂O reagiert. Das Dioxyaceton wurde mit Natriumamalgam in Glycerin übergeführt.

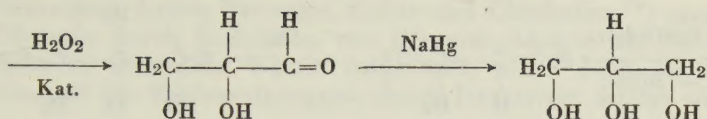


Pictet und Barbier¹⁰⁾ haben durch Kondensation von Glykolaldehyd mit Nitromethan 1-Nitro-2,3-Dioxy-propan erhalten. Dieses wurde mit Aluminium-amalgam zu dem entsprechenden Amin reduziert und dasselbe mit Natriumnitrit und Salzsäure in Glycerin übergeführt.

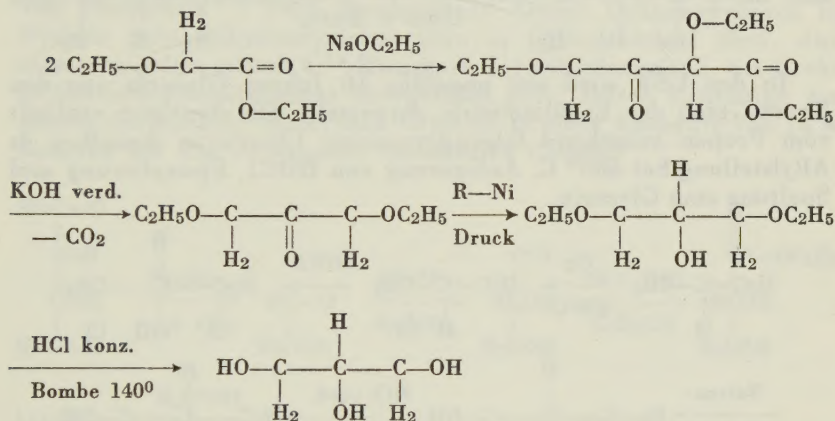


Irene Neuberg¹¹⁾ führte 1932 eine Synthese aus, die von Acetylen ausgehend über Aethylen, Kondensation des Aethylens mit Kohlenoxyd zu Acrolein, Hydroxylierung desselben und Reduktion des entstandenen Glycerinaldehyds mit Natriumamalgam Glycerin ergibt.



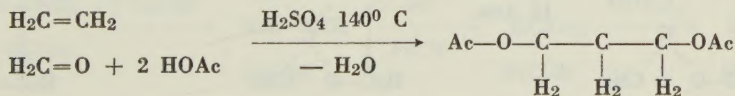


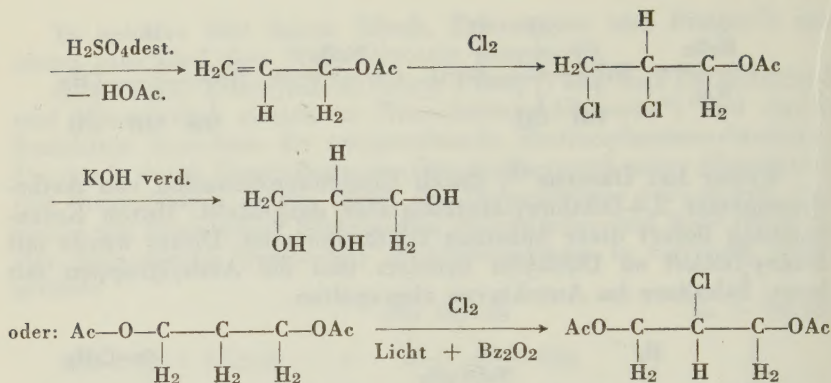
Weiter hat Darzens¹²⁾ durch Claisenkondensation von Aethoxyessigester 2,4-Diäthoxy-acetessigester dargestellt. Durch Ketonspaltung liefert diese Substanz Diäthoxyacetone. Dieses wurde mit Raney-Nickel zu Diäthylin hydriert und die Aethylgruppen mit konz. Salzsäure im Autoklaven abgespalten.



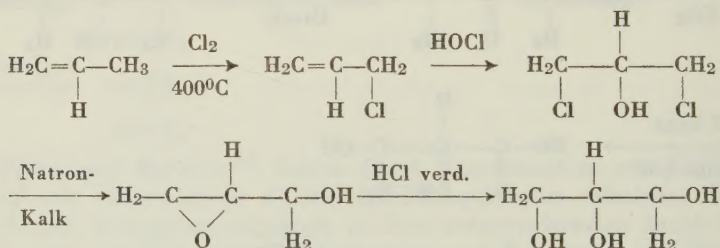
Fichter und Metz¹³⁾ haben 1936 bei Elektrolyse von Natriumbutyrat Glycerin als Nebenprodukt erhalten.

In neuerer Zeit haben Ohlsen, Kühn und Friedberg¹⁴⁾ eine Glycerinsynthese publiziert. Aethylen, Formaldehyd und Essigsäure geben in Gegenwart von Schwefelsäure bei 140° C und 73 Atm. Diacetyl-trimethylenglykol. Dieses lässt sich durch Destillation über Schwefelsäure in Allylacetat überführen. Durch Anlagerung von Chlor und nachheriges Verseifen entsteht daraus Glycerin. Man kann auch das Diacetat des Trimethylenglykols mit Benzoylperoxyd und Licht als Kalaysatoren chlorieren und erhält dann nach dem Verseifen Glycerin.



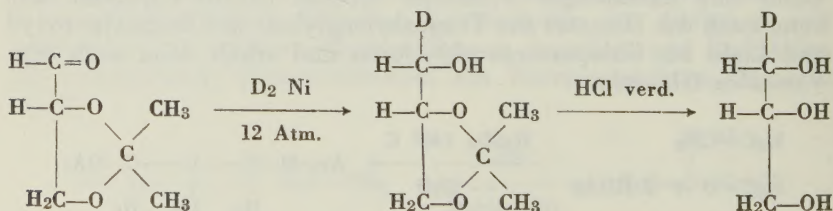


In den USA wird seit ungefähr 10 Jahren Glycerin aus den Krack-Gasen der Erdölindustrie dargestellt. Die Synthese verläuft vom Propen ausgehend folgendermassen: Chlorieren desselben in Allylstellung bei 400° C, Anlagerung von HOCl, Epoxylierung und Spaltung zum Glycerin.

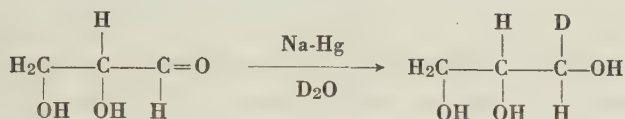


Signierung von Glycerin mit Isotopen

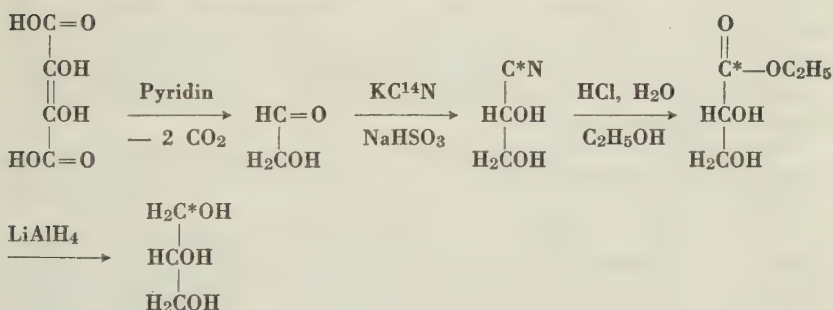
Mit Deuterium signiertes Glycerin wurde 1937 von Erlenmeyer, Fischer und Bär¹⁵⁾ hergestellt. Durch Deuterieren von Aceton-Glycerinaldehyd mit Nickel als Katalysator bei 12 Atm. Ueberdruck erhält man Glycerin, das am C₁ ein stabil gebundenes Deuteriumatom trägt.



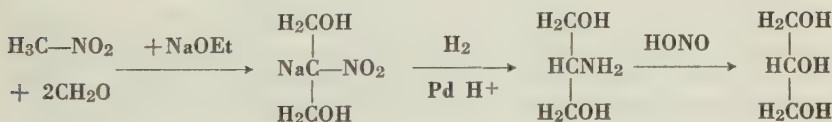
Neuerdings haben Favarger, Collet und Cherbuliez¹⁶⁾ markiertes Glycerin durch Reduktion von Glycerin-aldehyd mit Natrium-amalgam in schwerem Wasser dargestellt, wobei auch der labile Wasserstoff der Hydroxylgruppen durch Deuterium ersetzt wird.



Die erste Synthese eines C-signierten Glycerins (C^{14}) wurde von Doerschuk¹⁷⁾ 1951 durchgeführt. Durch Dekarboxylieren in Pyridin geht Dihydroxymaleinsäure in Glykolaldehyd über. Aus diesem entsteht mittels C^{14} -Blausäure Glycerinsäurenitril, das direkt in Glycerinsäureäthylester übergeführt wird. Durch Reduktion des Esters mit LiAlH_4 erhält man Glycerin in einer Ausbeute von 10 % bezogen auf das verwendete radioaktive Cyanid.



Schlenk und Mitarbeiter¹⁸⁾ haben eine Synthese des Glycerins ausgehend von Nitromethan und Formaldehyd auf dem auch von uns eingeschlagenen Wege durchgeführt. Das entstandene Natrium-nitro-propylenglykol wurde von ihnen hydriert und das Amin nicht durch Destillation, sondern durch Umkristallisieren seines Oxalates und Chlorides gereinigt. Durch Umsetzen mit Natriumnitrit erhält man in freilich schlechter Ausbeute Glycerin.



3. Biochemie und Physiologie

a) Resorption

Perewoznikoff¹⁹⁾ führte 1876 Glycerin und Seifen direkt in den Dünndarm von Hunden ein und beobachtete bei der anschliessenden Untersuchung des Darmes in dessen Zellen Fettröpfchen. Er vermutete eine mögliche Synthese von Neutralfett im Darm aus Glycerin und Seife. Will²⁰⁾ stellte 1879 nach Gaben von Olivenöl, Palmitinsäure + Glycerin und Na-palmitat + Glycerin an Frösche im Darmepithel immer reichliche Fettmengen fest.

Nach Gaben von freien Fettsäuren fand Munk²¹⁾ 1880 in der Lymphe von Hunden zur Hauptsache Neutralfett und schloss daraus, das Darmepithel sei imstande, aus freien Fettsäuren mit Hilfe von im Körper synthetisiertem Glycerin Neutralfett aufzubauen.

1899 untersuchte Höber²²⁾ die Resorptionsgeschwindigkeit von Glycerin und gelangte zu ähnlichen Werten wie für Kochsalz. Er stellte sich dabei interzelluläre Resorption, d. h. Diffusion zwischen den Zellen hindurch vor.

Levites²³⁾ beobachtete 1908 bei Versuchen an Hunden mit Pylorus-Fistel im Magen überhaupt keine Glycerinresorption. Nach Passage der oberen Hälfte des Dünndarmes waren schon 78 % resorbiert und im Coecum konnte nur noch 1,5 % der gegebenen Menge aufgefunden werden.

Nach Leites²⁴⁾ tritt nach Gaben von Olivenöl das Maximum an Neutralfett im Blute früher auf als nach solchen von Oelsäure und Glycerin.

1932 stellte Strack²⁵⁾ nach Gaben von Glycerin, Oelsäure, Glycerin + Oelsäure an Hunde mit einer Duodenalfistel fest, dass Glycerin gut, dagegen Oelsäure und Oelsäure + Glycerin schlecht vertragen werden. Er kommt zu der Auffassung, die Fettverdauung würde nicht einfach in einer Aufspaltung der Glyceride in Fettsäuren bzw. Seifen + Glycerin und anschliessender, ohne Schwierigkeiten verlaufender Resorption der einzelnen Komponenten bestehen.

Freeman und Friedemann²⁶⁾ wiederholten 1935 die Versuche von Munk²¹⁾ und stellten durch Glycerinbestimmungen fest, dass bei Gaben von Oelsäure der Gehalt von verestertem Glycerin in der Lymphe proportional denselben anstieg. Dieser Befund liess sich durch Synthese von Glycerin im Körper erklären.

Im selben Jahr untersuchten Laszt und Süllmann²⁷⁾ den Gehalt der Ratten-Darmschleimhaut an säurelöslichem organischem Phosphat und beobachteten während der Resorption von Glucose, Fructose, Glycerin und Fett im Vergleich zu hungrigen Tieren einen

Anstieg des ersteren um das Doppelte. Die Autoren nahmen an, die Resorption des Glycerins wäre mit einer Phosphorylierung verknüpft.

Höber R. und Höber J. haben 1937²⁸⁾ die Resorptionsgeschwindigkeit von Glycerin, Erythrit und Mannit bei Ratten mit Dünndarmschlingen verglichen. Mannit wurde im Gegensatz zu Glycerin sehr schlecht resorbiert. Da bei veränderlichen Konzentrationen die Resorption konstant blieb, wurde auf einen Diffusionsvorgang geschlossen.

In neuester Zeit bietet die Isotopentechnik Möglichkeiten, Einblicke in die Resorptionsvorgänge zu erlangen und es wurde bereits von verschiedener Seite über entsprechende Versuche unter Verwendung eines C-signierten Glycerins oder markierter Fette berichtet. Da unsere Arbeit auch einen Beitrag in dieser Hinsicht aufzuweisen hat, sollen diesbezügliche Befunde später diskutiert werden.

b) Glycerin als Nahrungsstoff

Schon Munk³⁰⁾ hat 1879 Glycerin auf seinen Nährwert untersucht. Nährstoffe waren damals nach der Definition von Voit Stoffe, die den Umsatz von Eiweiss oder allgemeiner gesagt von N-haltigen Substanzen verringerten. Für das Ausmass der «Eiweisszersetzung» im Körper war die Ausscheidung stickstoffhaltigen Materials ein direkter Masstab. Munk fütterte einem 20 kg schweren Hund, der sich im Stickstoffgleichgewicht befand, täglich 25—30 g Glycerin, ohne ein Absinken der Stickstoffausscheidung zu bemerken. Das Glycerin schien demnach keinen Nährwert zu besitzen. Lewin³¹⁾, welcher 1879 noch grössere Glycerinmengen bis 200 g verabreichte, gelangte auch zur Ueberzeugung, dem Glycerin komme im Sinne Voits kein Nährwert zu, indessen vermöge es Fett- und Kohlehydrateinsparend zu wirken. Letzteres versuchte Lewin an Hunden, denen er statt Glycerin eine entsprechende Menge Fett verfütterte, zu beweisen.

Bereits 1880 bezweifelte aber Arnschink³²⁾, dass dem Glycerin keinerlei Nährwert zukommen soll. Er bestimmte bei seinen Versuchen neben der Stickstoff- auch die Kohlensäure-Ausscheidung und fand beim Hund nach Gaben von 5—11 g/kg keine Veränderung ersterer, während letztere stark erhöht war. Um die gleiche CO₂-Ausscheidung wie bei Fettfütterung zu erhalten, musste mehr wie die doppelte Gewichtsmenge Glycerin gegeben werden.

1931 fanden Arima und Takahasi³³⁾ bei Fütterung männlicher Albinoratten mit 4,2 g Grundkost (27 % Fleisch, 70 % Butter,

3 % McCollum-Salz, dazu täglich 0, 2g Trockenhefe) und 1,25 g Kohlehydraten für das Glycerin den gleichen Nährwert wie für die Stärke.

Weitere solche Untersuchungen liegen von **Johnson und Carlson**³⁴⁾ vor. Sie beobachteten bei Ratten und Hunden normales Wachstum, wenn von den Kohlehydraten der Nahrung 41 % bzw. 35 % durch Glycerin ersetzt wurden. Zugabe von Glycerin zu einer eben ausreichenden Diät bewirkte bei Ratten Anstieg der Wachstumskurve. Weder bei wachsenden Hunden noch bei Menschen änderte sich dabei während eines Jahres bzw. 50 Tagen die Blutkörperchenzahl und das Hämoglobin. Körpertemperatur, Grundumsatz, Harnsäureausscheidung, Verdauung und Struktur der Organe blieben durch Glycerineinnahmen per os unverändert.

Holck³⁵⁾ bestätigte 1935 die Befunde von **Johnson und Carlson** und stellte fest, dass das Glycerin im Gegensatz zu Aethylen-, Propylen- und Diäthylenglykol vollkommen ungiftig ist. Bei einem Gehalt der Nahrung von 20 % Glycerin wuchsen die Versuchstiere gut (11 Wochen), bei Verfütterung der anderen genannten Verbindungen gingen alle schon nach Aufnahme viel geringerer Dosen ein.

c) Glucosebildung

Berthelot³⁶⁾ glaubte 1857, beim Bebrüten von Hodenschnitten mit Glycerin einen Uebergang desselben in Glucose zu beobachten, indessen konnte **Bertrand**³⁷⁾ diese Befunde nicht bestätigen und auch Behauptungen von **van Deen**³⁸⁾, auf Grund chemischer und physiologischer Versuche solche Zusammenhänge bewiesen zu haben, sind wenig überzeugend.

1871 versuchte **Weiss**³⁹⁾, die Glykogenbildung, die auf Glycerin zurückzuführen ist, durch eine mit dem Glycerin in Beziehung stehende Einsparung an Zucker zu erklären.

Die ersten sauber durchgeführten Versuche zum Beweis einer Glykogenbildung aus Glycerin bei Kaninchen und Hühnern stammen von **Luchsinger**^{40, 41)}, welcher z. B. folgende Befunde mitteilte:

Huhn ohne Kohlehydratnahrung	kein Glykogen
Huhn ohne Kohlehydratnahrung + 50 g Glucose	1,670 g Glykogen
Huhn ohne Kohlehydratnahrung + 42 ccm Glycerin	0,550 g Glykogen
Huhn ohne Kohlehydratnahrung + 60 ccm Glycerin	0,710 g Glykogen

In seiner Inauguraldissertation schreibt **Luchsinger** über den Weg, den das Glycerin hierbei einschlagen könnte, folgendes: «Wir stellen uns vor, 2 Moleküle Glycerin oxydieren sich zu Aldehyd und verbinden sich (in der Hydratform des Aldehydes) unter Wasseraustritt mittelst frei gewordener Kohlenstoffaffinitäten». Um

eine Umwandlung von Glycerin in Glykogen zu beweisen, versuchte er bereits eine Signierung dieser Verbindung, indem er Monochlorhydrin verfütterte, was indessen zu keinem Erfolg führen konnte.

In seinem Buch über den Diabetes mellitus schreibt Külz⁴²⁾ auf Grund eigener Versuche mit Glycerin: «Dieses bewirkt bei Diabetikern, die auf reine Fleischdiät gesetzt sind, in allen Fällen eine Erhöhung der Zuckerausscheidung» und äussert die Ansicht, Glycerin könne im diabetischen Organismus in Glucose übergehen.

Ustimowitsch⁴³⁾ glaubte 1876, nach oralen und intravenösen Gaben von Glycerin an Hunde und Kaninchen im Harn eine reduzierende Substanz gefunden zu haben und auch Plosz⁴⁷⁾ machte 1878 ähnliche Angaben.

Ueber Anhäufungen von Glykogen nach Glycerinzufuhr berichten weiter Salomon⁴⁴⁾ 1876, Frerichs⁴⁵⁾ 1877 und Finn⁴⁶⁾ 1877.

1895 erschien eine Arbeit von Hirschfeld⁴⁸⁾, der nachwies, dass Gaben von Glycerin (50—100 g/Tag) an Diabetiker die Acetonausscheidung stark verringerten und Glycerin offenbar wie die Kohlehydrate wirkt. Satta⁵¹⁾ konnte 1905 diese Befunde bestätigen.

Cremer wies 1902⁴⁹⁾ bei phlorizindiabetischen Hunden nach Gaben von Glycerin (30 ccm/Tag) Glucoseausscheidungen im Harn nach und schreibt: «In seiner Fähigkeit, aus Glycerin Glykogen zu bilden, stimmt der Organismus (Leberzelle?) mit der Hefezelle überein. Das Glycerin ist der erste Stoff, für den durch den obigen Versuch die Glucosebildung durch eine echte Synthese gesichert ist.»

Auch Luthje⁹⁰⁾ fand 1904 an pankreatektomierten Hunden einen Anstieg der Glucoseausscheidung nach Glyceringaben, und zwar bei einem 15 kg schweren Hund nach 60—360 g Glycerin 6,0—158 g Glucose im Harn.

1905 versuchte J. Schmid⁵⁰⁾ zu beweisen, dass Glucose auch in Glycerin übergehen könne. Er machte phlorinzindiabetische Tiere vollkommen glykogenfrei und verabreichte ihnen ein Futter aus freien Fettsäuren und Fleisch, wobei er sich vorstellte, bei Glycerinbildung aus Glucose wäre die Zuckerausscheidung geringer als bei einer Diät aus Neutralfett und Fleisch. Die Beantwortung der Fragestellung konnte natürlich auf diesem Wege nicht gelingen.

Einen Beweis des Ueberganges von Glycerin in Glucose lieferten 1925 Vögtlin, Dunn und Thompson⁵²⁾, indem sie feststellten, dass bei hohen Insulindosen Glycerin einen Rückgang der Hypoglykämie bewirkt.

Bei Versuchen an phlorizindiabetischen Hunden stellten Chambers und Deuel⁹³⁾ bei Glycerinfütterung eine Umwandlung desselben in Glucose fest. Die hierbei auftretende Verminderung des

respiratorischen Quotienten entsprach gerade der Oxydation von zwei H-Atomen, wie sie bei der Reaktion Glycerin = $\frac{1}{2}$ Glucose + 2H frei werden.

Catron und Lewis⁵³⁾ liessen 1929 junge weisse Ratten einen Tag hungern und gaben ihnen dann mit der Magensonde Glycerin. Nach 1—6 Stunden betrug der Glykogeengehalt der Leber 3,24 %, gegen 0,09 % bei den Kontrolltieren. Die nach Glycerinfütterung gebildeten Glykogenmengen entsprachen denjenigen nach Glucosefütterung.

Im gleichen Jahr untersuchten Ferber und Rabinowitsch⁵⁴⁾ den Einfluss von Glyceringaben auf den Diabetiker. Nach Verzehr von 100 g Glycerin in 250 ccm Wasser auf nüchternen Magen stieg der Blutzucker stark an, gelegentlich trat Zucker im Harn auf. Bei Gesunden war der Blutzuckeranstieg wie zu erwarten gering. Auch diese Autoren denken an einen Uebergang von Glycerin in Glucose.

Bei hepatektomierten Kaninchen geht Glycerin nach Drury und Salter⁵⁵⁾ nicht in Glucose über. In der Leber wurde der Sitz der Glucosebildung aus Glycerin vermutet.

Koike⁵⁶⁾ verglich 1934 die Wirkung des Glycerins auf den Zucker- und Milchsäurespiegel des Blutes mit derjenigen anderer Zuckerarten und stellte in Bezug auf die Kurvengipfel Unterschiede fest.

In seiner Arbeit über den Vergleich der glykogenetischen und ketolytischen Wirkung der Glucose und einiger Zwischenprodukte des Stoffwechsels kommt Shapiro⁵⁷⁾ 1935 zu der Erkenntnis, dass Glykogenbildung notwendig sei, um die Ketosis zu vermeiden. Im Rattenversuch erwies sich unter anderem auch das Glycerin bei ketogener Diät (Na-Acetoacetat) ketolytisch und glykogenetisch.

Auch Lederer⁵⁸⁾ stellte durch Versuche in vitro fest, dass das Glycerin in der Leber in Glykogen umgewandelt wird, wobei Insulin anregend wirkt. Durch Zufuhr von Glycerin per os oder intravenös wurde der Glykogeengehalt der Leber bei Ratten, Kaninchen und Hunden erhöht (geringe Glycerinausscheidung im Harn). Bei Injektion von 1 g/kg Körpergewicht waren $\frac{4}{5}$ nach fünf Minuten aus dem Blut verschwunden, die maximale Glykämie trat nach ungefähr einer Stunde auf. Ein diabetischer Hund verhielt sich ebenso.

Um die Jahrhundertwende diskutierte man die Frage, ob nicht auch das Glycerin der Nahrungsfette sich an einer Zuckerbildung im Organismus beteiligen könnte und Rumpf⁶⁰⁾ 1902, von Noorden⁶¹⁾ 1889, Rosenqvist⁶²⁾ 1899, Umber⁶³⁾ 1900 und weiter Hartogh und Schumm⁶⁴⁾ 1904 unternahmen in dieser Hinsicht Versuche, die indessen zu keinem eindeutigen Ergebnis führten.

1937 beobachteten Deuel, Butts, Blunden, Cutler und Knott⁶⁵⁾ nach Verfütterung von Triacetin, Tributyrin, Tricaproin und Tri-caprylin an hungernde Ratten in der Leber der Tiere beträchtliche Glykogenmengen. Triglyceride mit Fettsäuren ungerader Kohlenstoffzahl bewirkten noch höhere Glykogengehalte; Trilaurin, verschiedene Neutralfette und Öle jedoch keine signifikante Glykogenbildung.

d) Die Bildung von Fett aus Glycerin

Die Frage, ob Glycerin auch in Fettsäuren übergehen könne, wird in einer Arbeit von Reach⁶⁶⁾ 1908 diskutiert. Bei Bebrütung von Glycerin mit einem Organbrei nahm dieses ab, und zwar nicht als Folge der Veresterung mit Fettsäuren. Dabei fand ein Anstieg des Acetons bzw. der Acetessigsäure statt, und es wurde somit wahrscheinlich gemacht, dass der tierische Organismus Glycerin in Acetessigsäure überführen kann. Durchströmungsversuche von Lebern führten zum selben Resultat.

Der Pilz *Endomyces vernalis* vermag nach Haehn und Kintoff⁶⁷⁾ 1925 Glycerin in Fett umzuwandeln.

Neuerdings haben Balmain, Folley und Glycock⁶⁹⁾ den Einfluss des Glycerins auf die Fettsäuresynthese aus Acetat in der Milchdrüse untersucht. Im System: Rattengewebe, C¹⁴-Acetat, Glucose und Insulin wird die Radioaktivität der gebildeten Fettsäuren durch Zugaben von Glycerin auf das Doppelte erhöht. Ob Glycerin in Fettsäuren übergehen kann, werden wohl erst Versuche mit C¹⁴-signiertem Ausgangsmaterial eindeutig beweisen.

e) Verhalten im Blut

Im Jahre 1902 hat Nicloux⁷⁰⁾ nach einer von ihm ausgearbeiteten Glycerinbestimmungsmethode im Blut das freie Glycerin bestimmt und bei Hunden 1,9—2,5 mg %, bei Kaninchen 4,2—4,9 mg % gefunden. Während der Fettverdauung wurde keine Steigerung dieser Werte beobachtet. Intravenöse Verabreichung⁷²⁾ hatte bei Hunden und Kaninchen sofortige kurzfristige Erhöhung des Blutspiegels zur Folge.

Mit einer neuen Bestimmungsmethode für Glycerin im Blut fand Holst⁷³⁾, dass der Glycerinumsatz konstant sei, d. h. bei verschiedenen Konzentrationen nach einer gegebenen Zeit immer der gleiche prozentuale Anteil an Glycerin aus dem Blute verschwinde. Holst betrachtet die Leber als Organ für den Glycerinstoffwechsel, glaubt aber, das Glycerin würde durch dieselbe nicht vollständig oxydiert.

f) Ausscheidung im Harn

Tschirwinski⁷⁴⁾ fand bei Hunden, nach Gaben von 4—8 g/kg Glycerin, 38—62 % davon im Harn wieder auf und Sotschnitschewski⁷⁵⁾ behauptete, der Normalharn enthalte bereits Glycerin, und zwar mit Phosphorsäure verestert. Diese Angaben wurden nie bestätigt.

Leo⁷⁶⁾, welcher 1902 an gesunde Versuchspersonen Glycerin verabreichte, stellte eine Ausscheidung von 0,5—2 g fest. Da die angewandte Glycerinbestimmungsmethode aber mit beträchtlichen Verlusten verbunden ist (Isolierung des Glycerins durch Destillation aus dem Harn), dürften die Werte eher bedeutend höher liegen. Später verabreichte er⁷⁷⁾ grössere Mengen, konnte indessen trotz Durchfall aus den Faeces nie Glycerin isolieren. 20 g Glycerin wurden für den Menschen als noch verträgliche Dosis bezeichnet, welche nicht zur Ausscheidung desselben im Harn führt.

Auch Nicloux⁷²⁾ fand 1903 nach intravenösen Gaben an Hunden und Kaninchen prozentual grössere Glycerinmengen im Harn als im Blut.

Neuerdings hat Sveinsson⁷⁸⁾ 1948 die Ausscheidung von Glycerin durch die Nieren unter Benützung der Methode von Holst geprüft⁷³⁾. Bei Plasmakonzentrationen von über 30 mg % ist die Harnausscheidung davon unabhängig, bei niedrigeren Werten nimmt sie parallel der Plasmakonzentration ab. Es wird angenommen, dem Glycerin komme ein niedriger Schwellenwert zu (ungefähr 10 mg %, gegenüber 100 mg % für Glucose). Bei höheren Konzentrationen dürfte eine Kontrolle der Ausscheidung durch Rückdiffusion stattfinden und die Rückresorption durch Phosphorylierung erfolgen.

g) Pathologische Erscheinungen bei Ueberdosierung

In grösseren Dosen verabreicht ruft Glycerin starke Schädigungen hervor, die bis zum Tode führen können. Darüber macht Plosz⁴⁷⁾ 1878 nähere Angaben. Für Hunde sollen 8—10 g und für Pferde sogar 1 g/kg letal sein. Bei Ueberleben verschwinden die Vergiftungserscheinungen nach 5—6 Stunden. Plosz beschreibt erstere folgendermassen: Nach Eingeben grösserer Mengen Glycerin treten Atem- und Pulsbeschleunigung, grosse Muskelschwäche, Muskelzittern, Krämpfe, beim Pferd Kolik, Erbrechen (beim Hund) und bei Hund und Pferd Hämaturie auf. Bei der Sektion findet man ausgedehnte Hyperämie, katarrhalische, selbst skrupöse Entzündungen der Darmschleimhaut, Oedöm, häufig auch hypostatische Entzündungen der Lunge, Hyperämie der Leber und der Niere.

Die meisten Autoren, die sich mit dem Stoffwechsel des Glycerins befassten, beobachteten nach grossen Dosen solche Erscheinungen. Bei nicht oraler Applikation tritt hauptsächlich Hämaturie auf. Simon⁷⁹⁾ schreibt 1920 darüber: «Die Veränderungen, die sich durch subkutane Injektion an Kaninchen von Hämoglobinurie erzeugenden Glycerinmengen einstellen, wirkten sich auf die Tiere wie ein Blutverlust aus. Gibt man längere Zeit hindurch kleinere Mengen Glycerin, so tritt eine Reizung des lymphatischen Systems auf. Intravenöse Gaben von 4,5 g/kg erzeugten eine funktionelle Reizung des Knochenmarks. Bei Dosen von 6 g/kg bleibt die Reizwirkung auf den leukoplastischen Apparat erhalten.»

Ueber eine sensibilisierende Wirkung im Sinne einer Antigen-Antikörperreaktion berichten Maignon und Grandclaude⁸⁰⁾ 1930. Sie injizierten einem Hund in die V. Saphena 3—5 ccm Glycerin ohne irgendeinen Effekt. Eine an der gleichen Injektionsstelle erfolgende zweite Injektion erwies sich als unschädlich, wenn sie innerhalb weniger als 20 Stunden vorgenommen wurde. Lag jedoch zwischen der ersten und zweiten Injektion ein Zeitraum von 7—8 Tagen, so trat immer eine heftige lokale Reaktion ein, welche zur Sklerose des Gefässes führte.

1937 haben Pfeiffer und Arnouvé⁸¹⁾ einen möglichen Einfluss des Vitamins C auf die pathologischen Erscheinungen, die durch Glycerin hervorgerufen werden, untersucht. Zufuhr von Vitamin C bewirkte bei der weissen Ratte eine Erhöhung der zur Erzeugung von Hämoglobinurie notwendigen Glycerindosis um 100 %. Die Sterblichkeit wird entsprechend herabgesetzt (Parenterale Verabreichung von 0,75 ccm/kg erzeugt normal Hämoglobinurie).

Deichmann⁸²⁾ hat 1941 die letalen Dosen für Kaninchen und Ratten untersucht. Sie betrugen für erstere: Intraperitoneal 7 ccm/kg, subcutan 10 ccm/kg und oral 14 ccm/kg. Für Ratten: Intraperitoneal 5—6 ccm/kg, subcutan 15—16 ccm/kg und oral 21—23 ccm/kg. Hämoglobinurie trat bei subcutaner Gabe immer auf, aber auch gelegentlich bei intravenösen und intraperitonealer Verabreichung.

h) Sonstiges biochemisches Verhalten

Ueber das Glycerin als Heilmittel bei Diabetes mellitus berichteten 1872 Schultzen⁸³⁾ und Külz⁴²⁾ auf Grund von Ernährungsversuchen an Patienten. Eine Wiedergabe ihrer veralteten Ansichten scheint sich zu erübrigen.

Harrow, Power und Sherwin⁸⁴⁾ haben 1927 unter anderen Stoffen auch das Glycerin als Acetyl-donator zur Acetylierung der

p-Aminobenzoessäure bei Kaninchen geprüft. Glyceringaben sollen eine Erhöhung der Acetylkörper im Harn um 94 % bewirken.

Einen Einfluss des Glycerins auf die Ameisensäureausscheidung beim Hunde stellte 1919 Salkowski⁸⁵⁾ fest, indem er nach Gaben von 10—20 g/kg eine Erhöhung der Ameisensäureausscheidung im Harn auf ungefähr das Doppelte des Leerwertes beobachtete.

Nach Krebs und Henseleit⁸⁶⁾ bewirkt das Glycerin im Gegensatz zu Glucose, Fructose, Lactat oder Pyruvat keine Steigerung der Harnstoffsynthese aus Ammoniak und Kohlensäure in Ratten-Leberschnitten und auch die Harnsäuresynthese bei der Taube wird, wie Schuler und Reindel⁸⁷⁾ feststellten, durch Milchsäure, Glycerin, Malonsäure oder Tartronsäure nicht erhöht.

Nach Bernhauer und Schön⁸⁸⁾ vermag ein Mikroorganismus, der dem *Bact. xylinum* nahesteht, Glycerin quantitativ in Dioxyceton überzuführen. Dasselbe berichtet Virtanen⁸⁹⁾ für *Acetobacter suboxydans*, wobei aber die Ausbeute nur etwa 35 % beträgt.

Bei Vergärung von Glycerin und Glucose durch Propionsäurebakterien in Anwesenheit von $\text{NaHC}^{13}\text{O}_3$ ist signierter Kohlenstoff in der Bernsteinsäure. Propionsäure und im Propylalkohol nachweisbar (Wood, Werkman, Hemingway und Nier⁹⁰⁾ 1941).

Grabfield und Swanson⁹¹⁾ haben 1942 verschiedene Polyalkohole und Sacharide hinsichtlich ihrer Wirkung auf Diurese, Harnsäure- und Allantoinausscheidung geprüft. Bei weiblichen Hunden wird die Harnsäureausscheidung durch Glycerin nicht beeinflusst, aber diejenige des Allantoins gesteigert.

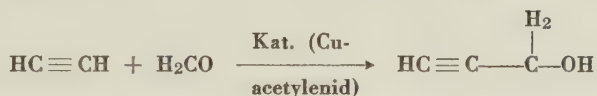
Doerschuk fand⁵⁹⁾ 1951 nach Gaben von radioaktivem Glycerin einen Teil der Aktivität im Harnoxalat wieder.

B. Spezieller Teil

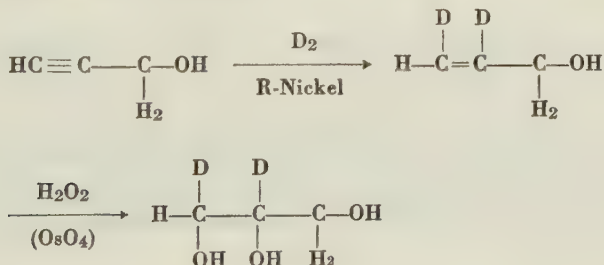
1. Synthesen

a) Signierung mit Deuterium

Wir fanden im Propargylalkohol, der jetzt dank der von Reppe ausgearbeiteten Verfahren zur Verfügung steht, ein zweckmässiges Ausgangsmaterial,



das wir mit Raneynickel als Katalysator bis zur Aufnahme von 1 Mol Deuteriumgas deuterierten. Trotz verschiedener Versuche mit vergifteten Katalysatoren gelang es nie, die Hydrierung auf der Allylalkoholstufe aufzuhalten. Man erhält daher immer ein Gemisch von Propargylalkohol, Allylalkohol und Propylalkohol. Da der Allylalkohol nur sehr schwer von den ihn begleitenden Alkoholen abgetrennt werden kann, war die direkte Hydroxylierung des Gemisches mit Wasserstoffperoxyd und Osmiumtetroxyd als Katalysator angezeigt. Entstandene organische Säuren wurden durch einen Anionenaustauscher entfernt und das Glycerin durch zweimalige Destillation im Hochvakuum gereinigt. Zur Analyse gelangte das daraus hergestellte Triacetin.



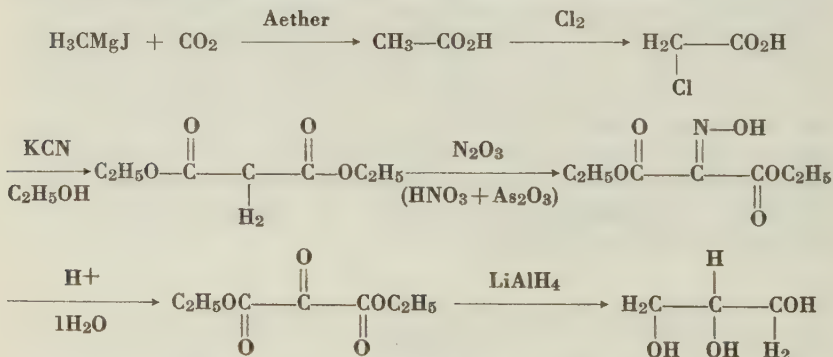
Versuche über einen direkten Austausch der stabilen Wasserstoffatome im Glycerin gegen Deuterium unter Verwendung von schwerem Wasser und einem Pt-Katalysator nach der Methode von Schönheimer⁹⁴⁾ schlugen fehl. Nach 14tägigem Erhitzen von Glycerin mit 50%igem schwerem Wasser und Katalysator konnten wir nur 1,64 Atom % D in ersteren nachweisen. Nach 10stündigem Erhitzen mit einem Ueberschuss an Wasser ging dieser D-Gehalt auf 1,28 Atom % zurück. Es ist daher anzunehmen, dass das Glycerin unter biologischen Bedingungen seinen stabil gebundenen Wasserstoff nicht austauscht.

b) Vorarbeiten zur Gewinnung eines C¹⁴-signierten Glycerins

Aus finanziellen Gründen mussten wir bei unseren Synthesen C¹⁴O₂ als Ausgangsmaterial verwenden, obwohl heute verschiedene Verbindungen zur Verfügung stehen.

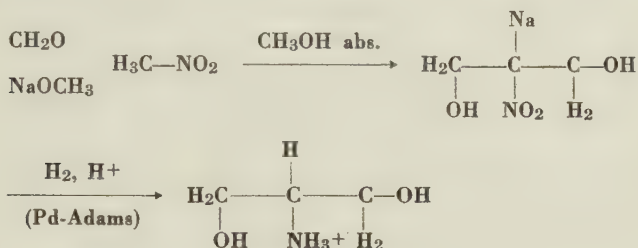
Es bestanden mehrere Möglichkeiten, diese Synthese durchzuführen, z. B. im Sinne von Doerschuk¹⁷⁾. Da man dazu zuerst das Bariumkarbonat in Kaliumcyanid überführen muss, was damals noch sehr schwer möglich war, sahen wir von diesem Wege ab. Heute ist KC¹⁴N nach der Methode von McCarter⁶⁸⁾ mit guten Ausbeuten zugänglich.

Zunächst haben wir eine Synthese über Methyljodid, Grignardreaktion mit CO₂, Essigsäure, Chloressigsäure, Malonester, Isonitrosomalonester, Mesoxalester und Glycerin versucht.

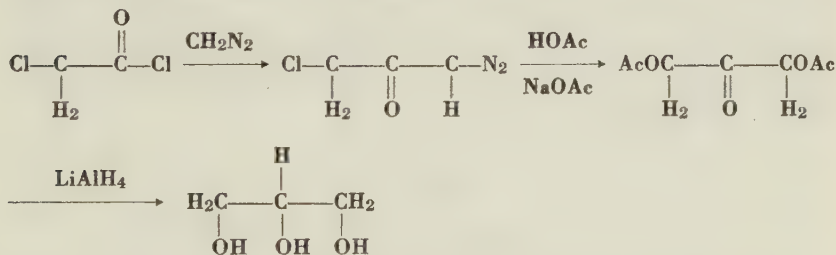


Dabei ergaben sich vornehmlich bei der Oxydation von Malonester zu Mesoxalester und bei der Reduktion des Malonesters mit Lithiumaluminiumhydrid schlechte Ausbeuten. Aus diesen Gründen schien uns in unserem Zusammenhang diese Synthese nicht vorteilhaft.

Wir haben auch versucht, auf dem von Darzens, Schmidt und Wilkendorf vorgezeichneten Wege ein signiertes Glycerin aufzubauen^{95, 96}). Nach Darzens kann man Nitromethan mit Formaldehyd und Natriummethylat zu Natriumnitropropylenglykol kondensieren. Dieses ergibt reduziert 1,3-Dioxy-2-aminopropan, das sich bei der Destillation zersetzt. Da zudem C¹⁴-Nitromethan und C¹⁴-Formaldehyd nur mit schlechter Ausbeute zugänglich sind, haben wir diese Methode verlassen.



Essigsäure in Gegenwart von rotem Phosphor chloriert gibt Chloracetylchlorid und dieses mit Diazomethan umgesetzt 1-Diazo-3-Chloro-Aceton, das mit Essigsäure + Kaliumacetat erwärmt zu Diacetyl-dioxyaceton führt. Die einzelnen Stufen zeigten ganz annehmbare Ausbeuten, so dass mit einer Gesamtausbeute von 20 bis 30 % gerechnet werden konnte.



In analoger Weise haben wir mit Benzylglykolsäure gearbeitet, was den Vorteil hat, dass man die einzelnen Zwischenprodukte leichter isolieren kann, indem sie ätherlöslich sind. Ein Nachteil bedeutet aber die leichte Spaltbarkeit der Benzyläther durch Säuren, zersetzt sich doch das o-Benzylglykolsäurechlorid bei der Destillation in Benzylchlorid und wahrscheinlich Glykolid. Zuletzt wird die Benzylgruppe durch Wasserstoff und Pd als Katalysator reduktiv abgespalten.

2. Biologische Versuche

Da uns vorerst nur das mit schwerem Wasserstoff signierte Glycerin zur Verfügung stand, blieben die biologischen Versuche auf dessen Anwendung beschränkt. D-Glycerin ist indessen für eine Reihe von biologischen Problemen verwendbar.

a) Glykogenbildung bei der normalen und alloxandiabetischen Ratte

Im letzten Drittel des vergangenen Jahrhunderts war man sich nicht klar, ob das Glycerin direkt in Glykogen übergehe oder ob es nur dessen Abbau verhindere. Als Vertreter der ersteren Ansicht wären vor allem van Deen³⁸⁾, Luchsinger^{40, 41)} und Külz⁴²⁾ zu nennen, für die letztere Ansicht haben sich Munk und Weiss^{30, 39)} eingesetzt. Ein letzter Versuch, diese Frage zu entscheiden, wurde von Catron und Lewis⁵³⁾ unternommen. Die starken Schwankungen, die der Leberglykogengehalt stets aufweist und die zahlreichen nicht übersehbaren Faktoren, die ihn zu beeinflussen vermögen, lassen solche bilanzmässigen Versuche für die Herbeiführung einer sicheren Entscheidung ungeeignet erscheinen. Der Beweis der Glykogensynthese konnte nur mit Hilfe der Isopotentechnik erbracht werden.

Wir haben an gut ernährte normale Ratten in Abständen von wenigen Stunden kleine Mengen Deuterio-Glycerin mit einem normalen Futter verabreicht, aus der Leber das Glykogen isoliert und auf seinen D-Gehalt geprüft. Dieser war, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, nur unerheblich. Der leichte und rasch resorbierbare 3-wertige Alkohol wurde nicht zur Bildung von Glykogen benötigt, dessen mengenmässiges Vorkommen in der Leber gleichartig gefütterter Tiere recht verschieden war.

Tabelle 1

Fütterung von Deuterio-Glycerin (18,8 At. % D)
an normal ernährte Ratten

Tier No.	A	B	C	D	E
mg Leberglykogen	254	127	320	162	867
% Leberglykogen	2,68	1,32	2,98	1,71	7,49
Atom % D im Leberglykogen	0,03	0,07	0,58	0,02	0,02

Gingen wir indessen bei unseren Versuchen von Ratten aus, welche 48 Stunden gehungert hatten und die dann zusammen mit Normalfutter 0,6 g signiertes Glycerin erhielten, so konnte in allen Fällen D-haltiges Glykogen nachgewiesen werden (vergl. Tabelle 2). Aus den vereinigten Lebern wurden die Lipide extrahiert. Ihr D-Gehalt betrug 0,23 Atom %, derjenige der daraus gewonnenen Fettsäuren nur 0,02 Atom %. Das Glycerin wurde somit auch zur Veresterung von Fettsäuren verwendet, ein Vorgang, der sich bei der Resorption oder in der Leber selbst abspielen dürfte.

Tabelle 2

**Fütterung von Deuterio-Glycerin (18,8 Atom % D) an hungernde Ratten bei gleichzeitigen Gaben von Normalfutter.
Leberglykogen**

Tier No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
mg	173	136	172	124	256	133	150	202	162	241
%	2,33	2,51	2,92	2,10	3,93	2,63	2,68	3,34	3,24	3,95
Atom % D	2,47	2,06	1,71	2,44	1,70	3,01	1,81	2,52	1,78	1,61

Glycerin ist demnach ein Intermediärprodukt der Glykogenbildung. Auf Grund des D-Gehaltes des Leberglykogens ist es indessen nicht möglich, zu quantitativen Aussagen über das Ausmass der Verwendung des verfütterten Glycerins zur Synthese der tierischen Stärke zu gelangen. Wir haben nicht ausschliesslich Glycerin verfüttert, sondern dieses nur in einer kleinen Menge einem normalen Futter beigemischt, das in der Hauptsache aus Kohlehydraten bestand. Damit blieben wir im Rahmen natürlicher, d. h. biologischer Bedingungen. Es soll indessen später über die Glykogenbildung bei alleiniger Glycerinfütterung nach einer Hungerperiode berichtet werden.

Bei Zuckerkranken ist nach klinischen Auffassungen die Fähigkeit des Aufbaues von Glykogen aus Glucose gestört. Wir haben an Alloxan-diabetischen Ratten zu prüfen versucht, ob die gezeigte Glykogensynthese aus Glycerin ausbleibe und die oben erwähnten Versuche an solchen Tieren wiederholt. Dabei fanden wir in den Lebern aller Ratten (vergl. Tabelle 3) deuteriumhaltiges Glykogen, was uns zur Annahme berechtigt, die Ausnützung des Trioxypfans zur Bildung tierischer Stärke sei bei der diabetogenen Erkrankung nicht gestört. Der Futterverzehr war bei diesen Tieren im Vergleich zu den gesunden Ratten stark gesteigert und betrug

rund das dreifache, daher müsste sich auch die Verdünnung des «Glyceringlykogens» durch aus den Kohlehydraten der Nahrung gebildete tierische Stärke intensiver auswirken. Trotz reichlicher Kohlehydratversorgung wird aus dem verabreichten Glycerin Glykogen gebildet.

Tabelle 3

**Fütterung von Deuterio-Glycerin (18,8 Atom % D)
an hungrige Alloxan-diabetische Ratten bei gleichzeitigen
Gaben von Normalfutter**

Tier Nr.	Leberglykogen			Ausgeschiedene Glucose in g
	mg	%	Atom % D	
1	91	1,26	0,72	4,92
2	32	0,39	1,27	0,49
3	383	3,70	1,30	2,28
4	436	4,10	1,18	1,15
5	171	1,58	1,60	3,36
6	166	1,81	2,00	9,10
7	167	1,90	2,21	7,05
8	154	1,40	1,96	7,08
9	210	2,60	2,60	2,92
10	93	0,82	2,51	5,97
11	298	3,50	1,30	0,98
12	295	3,00	1,15	4,10

Nach Stetten und Boxer⁹⁷⁾ ist bei alloxandiabetischen Ratten die Fettbildung stark herabgesetzt; etwa drei Viertel der mit dem Harn ausgeschiedenen Glucose stammen aus der Nahrung, ein Viertel aus dem Stoffwechsel. Der Anteil von kleineren Bruchstücken als Hexose an der Synthese des Leberglykogens war bei den diabetischen Tieren grösser als bei den gesunden. Das Ausmass der Fettsäuresynthese aus Glucose betrug nur noch 5 % desjenigen normaler Tiere. Die Glucosesynthese überstieg auf Grund von Versuchen, die Stetten, Welt, Ingle und Morley mit einem in allen C-Atomen signierten Zucker ausführten, um ein Viertel den bei normalen Tieren festgestellten Wert, während der Glucoseabbau um die Hälfte zurückblieb⁹⁸⁾. Unsere Beobachtungen weisen gleichfalls auf eine gesteigerte Kohlehydratsynthese bei der Zuckerkrankheit hin.

Brady und Gurin fanden mit Leberschnitten alloxandiabetischer Ratten eine beträchtliche Hemmung des Einbaus von Acetat in

langkettige Fettsäuren, während die Fähigkeit solcher Schnitte, aus Acetat Cholesterin aufzubauen, nicht beeinträchtigt war¹¹⁹). In vitro hatte Insulinzugabe keine Steigerung der Fettsäurebildung zur Folge. Chaikoff und Chernik¹²⁰) verglichen den Umsatz allseitig C-signierter Glucose, Fructose und Acetat in den Leberschnitten von normalen und alloxandiatetischen Ratten und fanden die Umwandlung der Glucose in CO₂ und Fettsäuren in der diabetischen Leber stark vermindert. Die Oxydation der Fructose war nicht gehemmt, aber ihre Umwandlung in Fettsäuren. Das Acetat wurde leicht oxydiert, dagegen erfuhr es bei den diabetischen Lebern nur eine geringe Umwandlung in höhere Fettsäuren. Die Autoren vermuten einmal eine Hemmung der Umwandlung von Glucose in Fructofuranose-6-phosphat und eine weitere bei der Umwandlung von Glucose in Fettsäuren. Auf Grund von Versuchen, bei denen die Umwandlung allseitig C-signierter Fructose in Glucose an Leberschnitten von gesunden und alloxandiatetischen Ratten genau gleich war, nehmen Chaikoff und Mitarbeiter¹²¹) eine Hemmung der Glucokinase an.

Untersuchungen, die mit C-signiertem Acetat und Pyruvat an alloxandiatetischen Leberschnitten durchgeführt wurden, zeigten eine rasche Oxydation dieser Verbindungen und eine Hemmung des Einbaus in höhere Fettsäuren gegenüber gesunden Leberschnitten. Behandelt man die Tiere vor Herausnahme der Lebern mit Insulin, so ist bei beiden Substanzen die Oxydation herabgesetzt und die Fettsäuresynthese erhöht^{122, 123}).

b) Versuche zur quantitativen Erfassung der bei der Resorption von Neutralfett eintretenden Spaltung

Die Vorgänge, die sich bei der Resorption der nach erfolgter Verdauung chemisch zumeist stark veränderten Nahrungsbestandteile abspielen, sind der Erforschung nicht leicht zugänglich. Bernhard und Mitarbeiter haben in früheren Arbeiten⁹⁹) die Aufnahme von Lipiden durch den Darm geprüft und darauf hingewiesen, dass seine synthetischen Leistungen dabei nicht unberücksichtigt bleiben dürfen¹⁰⁰). Bernhard und Bullet¹⁰¹) fanden bei Untersuchungen unter Benützung von Deuterium als Indikator für die Fettsäuren aus dem Intestinaltraktus kohlehydratreich ernährter Ratten annähernd so hohe D-Werte wie für die Leberfettsäuren und bewiesen damit auch in der Darmwand sich vollziehende Fettbildung. Masoro, Chaikoff und Dauben¹⁰²) bezweifelten eine merkliche extrahepatogene Lipidbildung. Popjak und Beekmans¹⁰³) haben in ausgedehnten Versuchen an Kaninchen mit Hilfe von schwerem Wasser und C¹⁴-Acetat obige Befunde bestätigt und eine Cholesterinsyn-

these nicht nur in der Leber, sondern auch im Dünndarm und den Ovarien bewiesen. Namentlich in der Dünndarmwand erfolgt intensive Synthese der Phospholipide, welche höhere D- und C¹⁴-Gehalte aufweisen als die Neutralfette.

Die Kenntnisse über die Fettresorption haben dank der Isotopentechnik bereits eine ganz wesentliche Vertiefung und Erweiterung erfahren, zumal wir durch das Verfahren von Bollman und Mitarbeiter¹⁰⁴⁾ heute in der Lage sind, während vieler Stunden die Thoracicus-Lymph bei normalen, nicht unter dem Einfluss von Narcotica stehenden Ratten zu gewinnen. Für Untersuchungen über Fettresorption sind damit sehr günstige experimentelle Bedingungen gegeben.

Die ursprüngliche Ansicht, der sich z.B. Munk anschloss, ging dahin, die Fette würden ungespalten zur Resorption gelangen. Pflüger behauptete aber, es sei dies nicht der Fall und nahm eine völlige Hydrolyse bei der Resorption an, wie es sich auch Verzar vorstellte, der in seinem Buch «Absorption from the intestine» S. 210 über die Fettresorption schreibt¹¹⁸⁾: «Fat is absorbed only after being split up in the intestine by lipase. The fatty acids then combine with the paired bile acids to form molecular complexes, which are not only watersoluble and diffusible, but also especially stable at the slightly acid reaction of the intestine. This complex is broken down again in the mucosal cell. The bile acids are adsorbed on the mucosal epithelium, so that they are able to dissolve a much greater quantity of fatty acids than in vitro. The fatty acid which is now in the cell combines with the glycerol, which is absorbed at the same time, to re-synthesise neutral fat. This synthesis passes through an intermediate stage of phosphatide formation. Probably the glycerol is phosphorylated and combines with the fatty acids.»

Erst 1938 griff Frazer auf Grund von histologischen Befunden die alte Idee wieder auf und entwickelte eine neue Hypothese der Fettresorption¹¹⁶⁾. Danach würden die Fette nur teilweise im Dünndarm hydrolisiert, vielmehr zu einem grossen Teil ungespalten resorbiert. Frazer postuliert, dass das ungespaltene Neutralfett via Lymphbahnen, die freien Fettsäuren aber durch die Pfortader abtransportiert würden. Letztere Ansicht dürfte nach Versuchen, die von verschiedenen Autoren durchgeführt wurden, nicht zutreffen. So haben Bloom, Chaikoff, Reinhardt, Entenman und Dauben¹⁰⁵⁾ kleine Mengen mit Fett verabreichter markierter Palmitinsäure zum grössten Teil wieder in den Lipiden der Lymphge aufgefunden. Signierte Pentadecanocarbonsäure verhielt sich ebenso¹¹⁷⁾. Bergström und Mitarbeiter¹⁰⁶⁾ gaben signierte Stearinsäure in freier Form

und als Glycerid zusammen mit Neutralfett oder einem Fettsäuregemisch an Katzen und konnten in allen Fällen mindestens 90 % der Aktivität in den Lipiden der Lymphe auffinden (5—10 % in den Phospholipiden). In einer späteren Arbeit berichtet Bergström¹⁰⁷⁾, dass auf Grund von Versuchen an Bollman-Ratten bei Gaben C¹⁴-signierter Stearin-, Palmitin- und Myristinsäure die Stearinsäure viel ausgiebiger als die niedermolekularen Fettsäuren in die Darmphosphatide eingebaut wird. In freier oder veresterter Form angebotene Fettsäuren liessen prinzipiell kein verschiedenes Verhalten erkennen. Resorbiertes Fett wurde hauptsächlich über die Lymphbahnen transportiert, Lymphe enthielt weder Fettsäuren noch Seifen.

Favarger, Collet und Cherbuliez¹⁶⁾ berechneten nach Fütterung eines Deuterio-Glycerin-haltigen Fettes durch Untersuchung der Darmlipide das Ausmass der stattfindenden Hydrolyse zu 45 %.

Tabelle 4

Menge und D-Gehalt des Lymphfettes nach Fütterung von
1,5 ml im Glycerinanteil signiertem Triolein
(1,45 At. % D)

Versuch No.	ml Lymphe	Lymphfett		
		mg	Atom % D	D-Wert
1	17	933	0,78	54
2	11	370	0,82	57
3	18	369	0,81	56
4	5	196	0,81	56
5	5	67	0,63	43
6	6	331	0,80	55
7	6,5	77	0,51	35
8	14	170	0,41	28
9	11	408	0,67	46
10	8	93	0,84	58

Durch Verabreichung signierter Fette und Aufarbeitung der anschliessend gewonnenen Lymphe werden den Tatsachen entsprechende Einblicke in die Vorgänge der Fettresorption ermöglicht. Wir haben daher an Ratten Triolein verabreicht, dessen Glycerinkomponente deuteriumhaltig war und aus der gesammelten, vereinigten Lymphe das Neutralfett gewonnen. Aus der Tabelle 4 geht hervor, dass in allen Fällen im letzteren eine deutliche Verminderung des D-Gehaltes angetroffen wurde, welche zumeist nur

noch etwa die Hälfte des ursprünglichen Wertes betrug. Man darf indessen nicht ohne weiteres annehmen, dieses Ergebnis werde ausschliesslich durch Spaltung des verabreichten Neutralfettes bedingt, von dem ein Teil als solches, ein anderer Anteil indessen erst nach Hydrolyse die Darmwand passiert.

Die untersuchte Lymphe bestand aus Darm- und Leberlymphe, womit der Einwand berechtigt ist, die festgestellte Isotopenverdünnung käme durch aus der Leber stammende Lipide oder durch im Darne vor der Verabreichung des signierten Fettes noch vorhandenen Nahrungsfett her. Besonders könnte aber vom Darm selbst synthetisiertes Fett die Ursache sein. Wir haben aus diesen Gründen an weitere Ratten ein in beiden Komponenten, also im Glycerin- und im Fettsäurenanteil markiertes Fett verfüttert. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5

Menge des Lymphfettes, Deuteriumgehalt desselben und seiner Fettsäuren nach Fütterung von 1 ml eines im Glycerinanteil und den Fettsäuren D-signierten Fettes, enthaltend 2,21 A.-% D D-Gehalt der Fettsäuren 0,59 Atom % D).

Versuch No.	ml Lymphe	Lymphfett				
		mg	Atom % D	D-Wert	Fettsäuren	
					Atom % D	D-Wert
1	25	689	1,10	50	0,36	61
2	40	683	1,04	47	0,34	58
3	47	154	1,29	58	0,54	92
4	37	856	1,29	58	0,44	75
5	24	536	1,33	60	0,49	83
6	20	607	1,35	61	0,48	81
7	15	310	1,35	61	0,57	97
8	15	607	1,28	58	0,56	95

Schliesslich applizierten wir einigen Tieren, zusammen mit Olivenöl Deuterio-Glycerin oder dessen Essigsäureester, deuteriertes Triacetin. Letzteres verwendeten wir, um eine längere Verweilzeit im Darm für seinen Glycerinanteil zu gewährleisten und im Hinblick auf eine bereits mögliche Resorption von Glycerin im Magen. In beiden Fällen prüften wir sowohl die Lymphe als die daraus gewonnenen Lipide auf ihrem D-Gehalt. Die erhaltenen experimentellen Daten gehen aus den Tabellen 6 und 7 hervor.

Tabelle 6

Deuterium-Gehalte der Lymphe, ihres Trockenrückstandes und ihrer Lipide nach Fütterung von 0,5 ml Deuterio-Glycerin (20,0 Atom % D) und 0,5 ml Olivenöl

Tier No.	Lymphe					
	ml	Atom % D	Trockenrückstand		Lipide	
			Gewicht mg	Atom % D	mg	Atom % D
1	65	0,06	2500	0,31	982	0,12
2	50	0,08	1920	0,07	627	0,11
3	69	0,09	2270	0,20	596	0,11

Tabelle 7

D-Gehalt der Gesamt-Lymphe, ihres Wassers, Trockenrückstandes und der Lipide nach Fütterung von 0,5 ml Deuterio-Triacetin 7,9 Atom % D) mit 1 ml Olivenöl

Versuch No.	Gesamt-Lymphe		Wasser	Trockenrückstand		Lipide	
	ml	Atom % D	Atom % D	mg	Atom % D	mg	Atom % D
1	65	0,03	0,02	1330	0,10	—	—
2	63	0,03	0,02	1550	0,07	440	0,04

In einem Falle wurde die Lymphe nach Deuterio-Glycerin-Gabe fraktioniert aufgefangen und ihr D-Gehalt bestimmt (vgl. Tabelle 8).

Tabelle 8

D-Gehalte der fraktioniert gesammelten Lymphe nach Verabreichung von 0,5 ml D-Glycerin (20,0 Atom % D) mit 1 ml Olivenöl

Zeit (Minuten)	70	100	135	255	275	390	425
Volumen (ml)	0—1	1—2	2—4	6—8	8—10	16—18	21—23
Atom % D	0,02	0,05	0,04	0,03	0,04	0,04	0,03

Diskussion der Ergebnisse

Das nach Gaben von Deuterio-Triolein aus der Lymphe isolierte Neutralfett enthielt stets weniger schweren Wasserstoff, was aber aus bereits diskutierten Gründen nicht allein durch die erfolgte Glyceridspaltung erklärt werden darf. Bei Fütterung eines in allen Komponenten markierten Fettes sind die D-Gehalte des Lymphfettes wiederum tiefer, diejenigen seiner Fettsäuren erfuhren indessen mehrmals praktisch keine Veränderung. Die Isotopenverdünnung ist in solchen Fällen somit durch eintretende Fett-Hydrolyse bedingt. Die aber immer noch beträchtlichen Isotopenkonzentrationen der Lymphlipide lassen eindeutig erkennen, dass ein grosser Teil des applizierten Fettes ungespalten resorbiert wurde.

Es ist nun auf Grund der ausgeführten D-Bestimmungen möglich zu berechnen, wieviel von dem verabreichten Fett unter den herrschenden Umständen den Weg ungespalten oder gespalten durch die Darmwand fand. Nehmen wir an, die Resorption der bis auf einen geringen Anteil an Linol- und Linolensäure D-signierten Fettsäuren unseres Fettes, die zudem in einer Zusammensetzung verabreicht wurden, wie sie in den Rattenlipiden vorliegen, gehe ohne jegliche Selektion vor sich. Dann entsprechen die in der Tabelle 5 genannten D-Werte der Lymphfettsäuren der prozentualen Zusammensetzung an verfütterten und die Differenz zu 100, also 39, 42, 8, 25, 17, 19, 3 und 5 % den anderweitig hinzugekommenen Fettsäuren.

Es lässt sich auch der D-Gehalt des im Lymphfett vorhandenen Glycerins berechnen.

Das verfütterte Fett mit 2,21 Atom % D (= a) bestand aus Fettsäuren mit 0,59 Atom % D (= b). Das zur Veresterung verwendet Glycerin enthielt 20,0 Atom % D (= z). Zur Vereinfachung sei angenommen, die Fettsäuren hätten nur aus Oelsäure bestanden, d. h. die Anzahl der H-Atome des Fettes betrage 104 (= c), diejenigen der Fettsäuren 102 (= d), des Glycerins 8 (= e). Wären nur die Fettsäuren, nicht aber auch das Glycerin D-haltig gewesen, so betrüge die Deuteriumkonzentration eines solchen Fettes $\frac{db}{c} = y$; hätte nur das Glycerin, nicht aber die Fettsäuren D aufgewiesen, so ergäbe sich ein D-Anteil von $a - \frac{db}{c} = a - y = x$. Andererseits folgt für den D-Gehalt des Glycerins in solchen Fetten: $z = \frac{cx}{e}$. Auf das verfütterte signierte Fett angewendet, ergibt diese Rechnung für $y = 0,58$, für $x = 1,63$ und für $z = 20,6$ Atom % D. Führen

wir diese Berechnungen für die Lymphfette der Versuche 1—8 (Tabelle 5) durch und ersetzen wir x durch x' und z durch z' , so erhalten wir für x' 0,75, 0,71, 0,75, 0,86, 0,85, 0,88, 0,79 und 0,73 und für z' 9,8, 9,2, 9,7, 11,2, 11,0, 11,5, 10,3 und 9,5 Atom % D. Der im Lymphfett vorhandene prozentuale Anteil an D-Glycerin ist dann $\frac{100x'}{1,63} = u$ und es ergeben sich wiederum für die Lymphfette 1—8 Gehalte an Deuterio-Glycerin von 46, 44, 46, 53, 52, 54, 48 und 45 %.

In den Lymphlipiden vorhandenes, nicht vollkommen gespaltenes Nahrungsfett ist nun dem D-Glyceringehalt derselben proportional. Der berechnete Wert u kann in Wirklichkeit aber nicht dem vorhandenen Anteil an ungespaltenem Fett gleichgesetzt werden, weil zumeist eine mehr oder weniger grosse Verdünnung des verfütterten Fettes durch Lipide aus anderen Quellen eintrat. Es ist daher der oben diskutierte prozentuale Anteil an ungespalten resorbiertem Nahrungsfett : $\frac{u}{v} \cdot 100$. Durch Subtraktion dieses Wertes von 100 ergibt sich die Menge des in vollkommen gespaltenem Zustand resorbierten Nahrungsfettes $S = (1 - \frac{u}{v}) \cdot 100$ (vergleiche Tabelle 9).

Es ergibt sich somit aus den Untersuchungen der erhaltenen Lymphfette, dass verabreichtes Nahrungsfett im Zusammenhang mit seiner Resorption im Ausmass von 25—53 % hydrolysiert wurde. Ob der übrige Anteil die Darmwand völlig unverändert oder nach intermediärer Spaltung zu Mono- und Diglyceriden passierte, erlauben unsere Versuche nicht festzustellen. Da innerhalb der Darmwand fliessende, dynamische Gleichgewichte herrschen, kann aus der Zusammensetzung der Lymphlipide wohl kaum die mengenmässige Entstehung von Mono- und Diglyceriden berechnet werden.

Tabelle 9

Prozentuales Verhältnis von ungespaltenem und gespaltenem Nahrungsfett in den Lymphlipiden

Versuch No. s. Tab. 5	1	2	3	4	5	6	7	8
ungespalten	75	76	50	71	63	67	50	47
gespalten	25	24	50	29	37	33	50	53

Nach Glyceringaben fanden wir in der Lymphe und den Lymphlipiden nur geringe D-Konzentrationen (vgl. Tabellen 6, 7 und 8). Bei Gallenfistelhunden¹⁰⁸⁾ liess sich nach Verabreichung von Deuterio-Glycerin kaum schwerer Wasserstoff in den Faeceslipiden auffinden. Zu analogen Resultaten führten Versuche mit Triacetin. Verfüttertes Glycerin wird offenbar als leicht wasserlösliche Verbindung rasch resorbiert und auf anderen Wegen den Organen zugeführt oder abgebaut. Wir erinnern an seine Beteiligung an der Glykogensynthese und an seine Verwendung zur Veresterung der Leberfettsäuren. Für Umesterungen im Darm dürfte freies Glycerin kaum zur Verfügung stehen. Triacetin, das leicht hydrolysiert wird, verhält sich wie dieses.

Die D-Bestimmungen führten wir nach der Methode von Schönheimer¹¹⁵⁾ durch, gelegentlich waren Verdünnungen mit Olivenöl oder Fettsäuregemischen notwendig.

C. Experimenteller Teil

I. Signierungen

1. Versuche über den Austausch der C-gebundenen Wasserstoffatome in Glycerin.

50 g Glycerin und 100 g schweres Wasser (50 Atom % D) wurden mit einem Platinkatalysator nach Adams in einem Schüttelautoklaven 14 Tage ununterbrochen auf 130° C erhitzt. Das so behandelte Glycerin enthielt 1,64 Atom % D. Wir erwärmten es zur Entfernung des labil gebundenen Wasserstoffs (Hydroxylwasserstoff) während 10 Stunden mit 400 ccm Wasser auf Rückfluss. Hierauf ging der D-Gehalt auf 1,28 % zurück. Es darf somit angenommen werden, dass im Glycerin der an die C-Atome gebundene Wasserstoff unter biologischen Bedingungen nicht austauscht.

2. Hydrierung von Propargylalkohol mit D₂.

Zu 20 g reinem Propargylalkohol in 150 ccm Methanol fügten wir 3 g Raneynickel (W₄) zu und hydrierten mit Deuteriumgas bis zur Aufnahme der berechneten Menge D₂. (Für 1 Mol Propargylalkohol 1 Mol). Dauer 3—8 Stunden, je nach Aktivität des Katalysators. Hierauf trennten wir den Katalyten ab und entfernten das Lösungsmittel durch Destillation über eine Widmer-Kolonne. Das hydrierte Produkt behandelten wir unter Eiskühlung mit 36 ccm 30%igem Wasserstoffperoxyd und 7,5 mg Osmiumtetroxyd und liessen 2—3 Tage im Eisschrank bis zum Verschwinden des Allylalkoholgeruches stehen. Das überschüssige Wasserstoffperoxyd zersetzten wir mit 0,5 g Braunstein, wobei die Temperatur 0° C nicht überstieg. Aus der mit 300 ccm Wasser verdünnten und filtrierten Lösung eliminierten wir als Nebenprodukt gebildete organische Säuren durch Adsorption an Amberlite IR 4B. Nach Einengung der Lösung des Glycerins im Vakuum nahmen wir den Rückstand mit absolutem Alkohol auf und entfernten diesen wieder im Vakuum. Zwecks weiterer Entwässerung erwärmten wir das Glycerin 4 Std. auf 100° im Vakuum der Wasserstrahlpumpe. Wir erhielten durch

Hochvakuumdestillation, z. B. 10,2 g reines Glycerin vom Sdp. 122°/0,01 mm. Ausbeute 30 %.

Eine Probe wurde acetyliert. Im reinen Triacetin fanden wir 10,71 Atom % D; das Glycerin enthielt somit 18,8 Atom % D. Bei anderen Ansätzen fanden wir 19,2, 19,5, 22,5, 19,0 Atom % D.

4,411 mg Subst. gaben 8,02 mg CO₂ und 2,55 mg H₂O

C₉H₁₄O₆ (218) Ber. C 49,54 H 6,47 %

Gef. C 49,80 H 6,47 %

3. Versuche zur selektiven Hydrierung der Dreifachbindung des Propargylalkohols zu Allylalkohol.

Bei den Hydrierversuchen konnte nach Aufnahme eines Äquivalentes Wasserstoff keine merkliche Verlangsamung der Hydriergeschwindigkeit beobachtet werden. Die zu hydrierende Substanz wurde in der 10fachen Menge Lösungsmittel gelöst und mit Mengen von 10—100 % Katalysator versetzt.

Tabelle 10

Substanz	Lösungsmittel	Katalyt	Gift	H ₂ -Aufnahme* ccm
Propargyl- alkohol	Aethanol	R-Ni W ₄	—	80, 75
„	Wasser	R-Ni W ₄	—	100, 120
„	Methanol	R-Ni W ₇	—	130, 130
„	Wasser	R-Ni W ₇	Chinolin 1%	75, 80
„	Methanol	R-Ni W ₇	Thioharnstoff 1%	50, 40
„	Methanol	R-Ni W ₇	CS ₂ 1%	—
„	Methanol	Pd-Kohle	—	215, 210
„	Methanol	Pd-Kohle	Chinolin S 1%	85, 70
„	Methanol	Pt-Adams	—	560, 570
Propargyl- acetat	Aceton	R-Ni W ₄	—	810, 750
„	Benzol	R-Ni W ₄	—	210, 180

* H₂-Aufnahme innerhalb 30 Minuten vor und nach der Aufnahme der berechneten Menge.

4. Reduktion von Mesoxalester mit LiAlH₄ zu Glycerin.

10 g Mesoxalester (0,057 Mol) wurden innerhalb einer Stunde zu einer Lösung von 2,6 g LiAlH₄ in 100 ccm Äther unter Feuchtigkeitsausschluss und Rühren hinzuge tropft. Nach der Reaktion wurde der Äther entfernt, der Rückstand mit 60 ccm Essigsäure-

anhydrid versetzt und eine Stunde auf Rückfluss erwärmt, nachher in Aether aufgenommen, von den entstandenen Salzen durch Filtrieren abgetrennt. Nach Abdampfung des Aethers auf dem Wasserbad haben wir den Rückstand bei Wasserstrahlvakuum destilliert. Das Triacetin destillierte bei 130—133° C bei 15 mm. Ausbeute 1 g = 8,1 % der Theorie.

5. Versuch zur Darstellung eines α -Acetoxyacetaldehyd-diäthylacetals.

Bromacetal (44 g = 0,24 Mol) wurden mit 25 g Kaliumacetat, 50 ccm Glycerin und 80 ccm Aethanol versetzt, 8 Stunden auf Rückfluss erhitzt, dann in 250 ccm Wasser gegossen und mit Aether dreimal ausgeschüttelt. Trocknung über Natriumsulfat. Der Siedepunkt entsprach demjenigen des reinen Bromacetals (66—67°). Die Reizwirkung, die das Bromacetal sonst auf die Augen ausübt, war vollständig verschwunden. Von der erhaltenen Verbindung wurde eine Acetylbestimmung durchgeführt. 2,1385 g Substanz wurden mit 15 ml 1,44 n methanolischer Natronlauge eine Stunde gekocht. Titration mit 0,2 n Salzsäure ergab einen Laugenverbrauch von 105,9 ml. Dies entspricht 15,0 ml 1,44 n NaOH. Es war also keine verseifbare Acetylgruppe im Molekül nachweisbar.

6. Hydrierung von 2-Nitromethylenglykol zu 2-Amino—1,3-Dioxypropan.

20,7 g Natrium-nitromethylenglykol (0,146 Mol) wurden mit 23,2 g (0,5 Mol) Oxalsäure, 0,5 g Pd-Kohle und 150 ccm Aethanol versetzt und bei Normaldruck hydriert. Nach Aufnahme von 10,5 Liter Wasserstoff (ungefähr 0,44 Mol) war die Hydrierung beendet. Nach Abtrennung des Katalyten und des Aethanols, zersetzten wir das Oxalat mit Calciumhydroxyd. Das überschüssige $\text{Ca}(\text{OH})_2$ wurde durch Einleiten von CO_2 ausgefällt, abfiltriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt. Der in Aethanol aufgenommene Rückstand zersetzte sich bei der Hochvakuumdestillation.

7. Synthese von Diacetyl-dioxyaceton

Zu einem Liter ätherischer Diazomethan-Lösung (0,3 n) wurden 17 g = 11,4 ccm (0,15 Mol) Chloracetylchlorid in 100 ccm Aether unter Rühren und Kühlen mit Eis während einer Stunde zuge tropft. Nach einer Stunde destillierten wir den Aether ab und tropften den Rückstand in heissen Eisessig von 60—70° (vgl. auch Arndt¹⁰⁹). Nun wurde mit Kaliumacetat versetzt, eine Stunde auf Rückfluss gekocht, der Eisessig im Vakuum und zuletzt durch mehr-

maliges Abdampfen mit Xylol vollständig entfernt. Den Rückstand nahmen wir mit Wasser auf, extrahierten mit Aether und behandelten die ätherische Phase vor dem Trocknen über Natriumsulfat mit Natriumbikarbonat und Wasser. Den ätherischen Rückstand unterwarfen wir nun einer Vakuumdestillation.

Sdp. 132—138°/12 mm. Ausbeute 8,58 g = 36 % der Theorie.

Diese Fraktion wurde beim Abkühlen in Eiswasser fest und schmolz nach dreimaligem Umkristallisieren aus Petroläther-Benzol 1:1 bei 48,8—49,2 (unkorr.).

Ausbeute 6,1 g = 23 % der Theorie.

Die Substanz wurde 4 Stunden im Hochvakuum bei 20° und 0,02 mm getrocknet.

Analyse:

3,940 mg Subst. gaben 7,0 mg CO₂ und 2,11 mg H₂O

4,035 mg Subst. gaben 7,18 mg CO₂ und 2,07 mg H₂O

C₇H₁₀O₅ (174) Ber. C 48,27 H 5,79 %

Gef. C 48,49 H 5,99 und C 48,56 H 5,74 %

8. Reduktion des Diacetyl-dioxyacetons mit Lithium-aluminiumhydrid zu Glycerin.

3 g Diacetyldioxyaceton (0,017 Mol) wurden unter Rühren in 50 ccm Aether gelöst und unter Ausschluss der Luftfeuchtigkeit und Rühren zu einer Lösung von 1,89 g (0,05 Mol) Lithium-aluminiumhydrid in 150 ccm Aether getropft. Nach beendeter Reaktion erwärmten wir noch eine Stunde auf dem Wasserbad unter Rückfluss, gaben dann 4 ccm Essigester zur Zerstörung überschüssigen LiAlH₄ hinzu und gossen das Reaktionsgemisch auf Eis. In die wässrige Lösung wurde dann Kohlendioxyd bis zur neutralen Reaktion eingeleitet, von den ausgeschiedenen Salzen und vom Aluminiumhydroxyd abzentrifugiert und der Niederschlag zweimal mit Wasser ausgekocht, jedesmal zentrifugiert, die vereinigten Zentrifugate dreimal mit Aether ausgeschüttet und die restlichen Kationen aus der wässrigen Phase durch eine Kationenaustauschersäule mit Amberlite IR 120 entfernt. Die im Wasserstrahlvakuum eingeeengte und mehrstündig getrocknete Substanz destillierten wir im Hochvakuum.

Sdp. 120°/0,02 mm. Ausbeute 1,2 g = 77 % der Theorie.

1 g des erhaltenen Glycerins wurde in das Tri-p-nitrobenzoat übergeführt. Smp. 189° uncorr. Mischsmp. 188—189°.

Analyse:

4,447 mg Subst. gaben 8,72 mg CO₂ und 1,33 mg H₂O

4,830 mg Subst. gaben 9,44 mg CO₂ und 1,33 mg H₂O

4,980 mg Subst. gaben 340 ccm N bei 28° und 739 mm Hg
 6,950 mg Subst. gaben 476 ccm N bei 23° und 742 mm Hg
 $C_{24}H_{17}O_{12}N_3$ (539) Ber. C 53,33 H 3,34 und N 7,78 %
 Gef. C 53,27 H 3,33 und N 7,53 %
 C 53,34 H 3,08 und N 7,71 %

9. Benzylglykolsäurechlorid

Benzylglykolsäurechlorid haben wir aus Benzylglykolsäure (110) und Thionylchlorid dargestellt. 16,6 g Benzylglykolsäure (0,1 Mol) wurden mit 22,8 g = 19,3 ccm reinem Thionylchlorid (0,2 Mol) versetzt, fünf Stunden auf 60° erwärmt und das Thionylchlorid im Vakuum abdestilliert. Man muss dabei jegliche Feuchtigkeit ausschliessen, da sonst das Säurechlorid leicht zersetzt wird und die Möglichkeit der Verseifung des Benzyläthers besteht.

10. Darstellung von 1-Benzyl oxy-3-Acetoxy-Aceton

15 g Benzylglykolsäurechlorid (0,1 Mol) wurden zu einem Ueberschuss von ätherischer Diazomethanlösung innerhalb einer halben Stunde bei 0—5° unter Rühren hinzugeetropt. Dann haben wir noch zwei Stunden in der Kälte gerührt, den Aether in einem Wasserbad von 40—50° verdampft und die letzten Reste im Vakuum entfernt. Nun gibt man 60 ccm Eisessig hinzu und erwärmt 4 Stunden auf 60°. Dann wird der Eisessig im Vakuum entfernt, 50 ccm Aether hinzugegeben und dreimal mit 10 ccm Wasser ausgeschüttelt, dann zweimal mit 10 ccm 2 n-Sodalösung und noch dreimal mit 10 ccm Wasser; die ätherische Lösung wurde über Natriumsulfat getrocknet, der Aether abdestilliert. Der Rückstand wurde anschliessend im Hochvakuum destilliert.

Sdp. 107°/0,03 mm. Ausbeute 8 g = 37 % der Theorie.

Analyse:

4,061 mg Subst. gaben 9,55 mg CO_2 und 2,28 mg H_2O

7,250 mg Subst. gaben 16,98 mg CO_2 und 3,88 mg H_2O

$C_{12}H_{14}O_4$ (222) Ber. C 64,85 H 6,35 %

Gef. C 64,18 H 6,28 und C 63,92 H 5,99 %

Es ist ersichtlich, dass die Verbindung durch die Destillation offenbar nicht ganz rein erhalten wurde.

11. Reduktion von 1-Benzyl oxy-2-acetoxy-aceton zu Benzylglycerin nach Meerwein-Ponndorf.

4 g Benzyl-acetyl-dioxy-aceton (0,018 Mol) wurden mit 25 ccm Isopropanol und 3,6 g Aluminiumisopropylat (0,018 Mol) in einem Kolben, der mit einer Widmerkolonne versehen war, erhitzt und das entstehende Aceton langsam abdestilliert. Dauer 3 Stunden.

Der überschüssige Isopropylalkohol wurde im Vakuum entfernt, das Reaktionsprodukt reagierte nur noch ganz schwach mit Fehlingscher Lösung. Nun wurde mit Salzsäure angesäuert, im Kutscher-Steudel-Apparat mit Aether erschöpfend extrahiert (1 Tag) und der ätherische Auszug über Natriumsulfat getrocknet. Der Aether wurde auf dem Wasserbad abdestilliert und der Rückstand im Hochvakuum destilliert.

Sdp. $115^{\circ}/0,02$ mm. Ausbeute 3,1 g = 91 % der Theorie.

Die Verbindung ist etwas hygroskopisch, sie wurde deswegen nach zweimaliger Destillation im Hochvakuum zur Analyse gegeben, konnte aber nicht analysenrein erhalten werden.

Analyse:

3,440 mg Subst. gaben 8,12 mg CO_2 und 2,22 mg H_2O

5,320 mg Subst. gaben 12,56 mg CO_2 und 3,33 mg H_2O

$\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}_3$ (182) Ber. C 65,91 H 7,74 %

Gef. C 64,42 H 7,22 und C 64,43 H 7,00 %

12. Reduktive Spaltung des Benzylglycerins zu Glycerin

2 ccm Benzylglycerin (0,014 Mol) wurden mit 10 ccm Methanol versetzt, 0,2 g Palladiumkatalysator nach Adams hinzugegeben und bei Normaldruck hydriert. Nach Verbrauch von 415 ccm Wasserstoffgas kam die Hydrierung zum Stillstand. Nun haben wir vom Katalyten abfiltriert, das Methanol im Vakuum abgedampft, den Rückstand mit Wasser versetzt und dreimal ausgeäthert. Dann wurde das Wasser im Vakuum entfernt und der Rückstand im Hochvakuum destilliert. Ausbeute 0,7 g = 54 % der Theorie. Sdp. $123-5^{\circ}/0,02$ mm. Das Glycerin wurde in das Tri-p-Nitrobenzoat übergeführt. Smp. $188-189^{\circ}$, Mischschmelzpunkt $188-189^{\circ}$ C (unkorr.).

13. Darstellung von im Glycerinanteil deuteriertem Triolin¹¹¹⁾

4,5 g Deuterio-Glycerin 20,2 At. % D (0,049 Mol) wurden mit 41,4 g im Hochvakuum destillierter Oelsäure (0,147 Mol) 100 mg SnCl_2 am Wasserstrahlvakuum im Oelbad 6 Stunden auf $175-185^{\circ}$ C erhitzt, das Reaktionsprodukt nach dem Erkalten mit 500 ccm Petroläther versetzt, dreimal mit je 50 ccm einer wässrigen Lösung, enthaltend 30 % Alkohol und 10 % 2 n NaOH, und dann noch zweimal mit 25 ccm Wasser ausgeschüttet. Die Petrolätherphase haben wir über Natriumsulfat getrocknet und den Petroläther abdestilliert, wobei die letzten Reste von Lösungsmitteln durch dreistündiges Erwärmen auf 100° im Vakuum unter Stickstoff entfernt wurden.

Im so gewonnenen Triglycerid liessen sich keine freien Fettsäuren und Hydroxylgruppen nachweisen.

Das im Fettsäure- und Glycerinanteil signierte Fett wurde auf die genau gleiche Weise hergestellt. Die nachstehend genannten D-Gehalte stellen Mittelwerte mehrerer Messungen dar.

Triolin	= 1,45 Atom % D
Fett	= 2,21 Atom % D
Fettsäuren	= 0,59 Atom % D.

II. Biologische Versuche

1. Fütterungsversuche mit D-Glycerin (Glykogenbildung)

Die verwendeten weissen männlichen Ratten von 250—300 g befanden sich in Stoffwechselkäfigen und erhielten ad libitum Trinkwasser.

Nach subkutaner Injektion von 2 ccm Glycerin trat nach 3—4 Stunden Hämaturie auf, die nach etwa 24 Std. abklang. Nach subkutaner Injektion von 2 ccm Triacetin gingen die Ratten nach etwa 30 Minuten unter Lähmungserscheinungen der Extremitäten zugrunde. Wir haben deshalb das Glycerin mit der Schlundsonde verfüttert und den Tieren eine bekannte Menge Normalfutter verabreicht. Einmalige tägliche Dosen von 2 ccm verursachten keine unliebsamen Erscheinungen. Bei Fortsetzung solcher Gaben während mehrerer Tage traten indessen Diarrhöen auf.

a) Versuche mit normal ernährten Ratten

Wir gaben den Tieren je 500 mg der signierten Verbindung, worauf sie nach 4 Stunden getötet und aus den Lebern nach Stetten und Mitarbeiter¹¹²⁾ das Glykogen isoliert wurde. Körper- und Lebergewichte s. Tabelle 11.

Tabelle 11

Tier	A	B	C	D	E
Körpergewicht g	355	350	377	295	285
Lebergewicht g	9,5	9,6	10,7	9,5	11,7
Atom % D im Körperwasser	0,02			0,03	

b) Versuche mit gesunden, fastenden Ratten

Gesunde Ratten bekamen während 48 Stunden kein Futter, sondern lediglich Trinkwasser. Die Glyceringaben, total 600 mg, erfolgten darauf in Abständen von 2 Stunden in jeweiligen Mengen von 200 mg. Mit der ersten Glycerindosis erhielt jedes Tier 10 g Normalfutter, dessen Aufnahme kontrolliert wurde. Die Isolierung des Leberglykogens erfolgte 6 Stunden nach Beginn der Fütterung, und zwar im Hinblick auf eine gleichzeitige Gewinnung der Leberlipide nach den Angaben von Terriere und Butts¹¹³). Die diesbezüglichen Befunde ergeben sich aus Tabelle 12.

Die vereinigten Leberlipide wogen 735 mg und hatten einen D-Gehalt von 0,23 Atom %. Nach Bestimmung ihres D-Gehaltes gewannen wir durch Verseifung die Fettsäuren, welche wir gleichfalls auf ihren Gehalt an schwerem Wasserstoff prüften (0,02 Atom % D).

Tabelle 12

Tier No.	Körpergewicht g	Lebergewicht g	Konsumiertes Futter g	Atom % D im Körperwasser
1	185	7,4	10	0,03
2	182	5,8	10	0,02
3	187	5,8	10	0,03
4	196	5,9	10	0,04
5	182	6,5	10	0,04
6	173	5,1	6	0,06
7	167	5,6	9	0,01
8	164	6,0	9	0,05
9	161	5,0	7	0,04
10	178	6,1	4	0,04

c) Versuche mit Alloxan-diabetischen Ratten

Bei Alloxan-diabetischen Ratten bestimmten wir die Zuckerausscheidung und liessen die Tiere 48 Stunden hungern. Dann verabreichten wir wieder mit der Schlundsonde dreimal in zweistündigen Abständen je 200 mg signiertes Glycerin. Mit jeder Glycerindosis erhielt jede Ratte 10 g Normalfutter, welches sehr rasch gefressen wurde. Aufarbeitung und Isolierung des Glykogens erfolgten wie beim vorangehenden Versuch. Körper- und Lebergewicht, Harnmenge und Glucosekonzentration, ferner D-Gehalt der Körperflüssigkeit sind aus der Tabelle 13 ersichtlich.

Tabelle 13

Tier No.	Körpergewicht g	Lebergewicht g	Harnmenge p. 24 Std. ccm	Atom % D im Körperwasser	% Glucose im Harn
1	264	7,2	54	0,03	9,1
2	267	8,2	25	0,03	2,0
3	345	10,3	42	0,01	5,4
4	342	9,6	31	0,02	3,7
5	350	10,8	38	0,04	6,2
6	340	9,2	100	0,05	9,1
7	290	8,8	78	0,05	9,0
8	340	11,0	70	0,02	10,1
9	290	8,1	53	0,05	5,5
10	330	10,5	64	0,05	9,3
11	290	8,6	49	0,04	2,0
12	300	9,7	50	0,04	8,2

2. Resorptionsversuche

Wir verwendeten männliche, weisse, normal ernährte Ratten im Gewichte von 300—350 g. Etwa 18 Stunden vor dem operativen Eingriff erhielten sie keine Nahrung mehr, sondern nur noch Trinkwasser. Die Drainierung des Lymphganges erfolgte in genauer Anlehnung an die Angaben von Bollman¹¹⁴). Um alle Nachwirkungen der Narkose zu vermeiden, haben wir die operierten Tiere stets erst am nächsten Tag (nach 18—24 Stunden) zu den Versuchen herangezogen. Sie wurden fettfrei, d. h. mit Zucker, Gelatine und Salzmischung ernährt. Die Applikation der zu prüfenden Fette erfolgte mit der Magensonde, womit Gewissheit bestand, dass sich das gesamte Quantum im Magen befand. Diarrhöen haben wir nicht beobachtet. Die Lymphe wurde zumeist etwa während 15—24 Stunden, jedenfalls solange, bis sie nicht mehr milchig erschien, gesammelt. Während des Versuches bekamen die Tiere eine 0,5-prozentige wässrige Kochsalzlösung ad libitum und das erwähnte fettfreie Futter. Nach einer Pause von einigen Stunden konnten sie für einen weiteren Versuch herangezogen werden. Im allgemeinen führten wir 3—4 Experimente mit ein und derselben Ratte durch.

Das Triolein wurde in Mengen von je 1,5 ml verabreicht, wobei folgende Bedingungen galten:

Versuch No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tier No.	1	1	2	3	4	4	4	5	5	5
Dauer Std.	24	24	19	18	18	20	16	17	16	15

Das im Glycerin- und Fettsäureanteil signierte Fett applizierten wir in Mengen von je 1 ml:

Versuch No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Tier No.	1	1	1	1	2	2	3	4
Dauer Std.	22	17	9	9	23	16	20	15

Das signierte Glycerin (je 0,5 ml + 1,0 ml Olivenöl) gaben wir einem Tier in drei Versuchen und sammelten die Lymphe während 9, 9^{1/2} und 8 Stunden. Das signierte Triacetin haben wir analog verabreicht bei einer Versuchsdauer von 16 bzw. 15 Std.

Aufarbeitung der Lymphe

Die quantitativ gesammelte, vereinigte Lymphe versetzten wir mit soviel Alkohol, dass eine 30%ige alkoholische Lösung vorlag und extrahierten dieselbe erschöpfend mit Petroläther. Die Extrakte haben wir mit Natriumsulfat getrocknet und den Petroläther anschliessend abdestilliert. Der Rückstand wurde im Vakuumtrockenschrank bei 50° C auf Gewichtskonstanz gebracht. Die Verseifung der erhaltenen Lipide erfolgte in üblicher Weise. Zur Gewinnung der Trockenrückstände der Lymphe engten wir dieselbe im Vakuum ein und extrahierten die Lipide im Soxhlet mit Petroläther.

Zusammenfassung

1. Einleitend werden die in der Literatur beschriebenen, von verschiedenen Autoren ausgeführten Glycerinsynthesen referiert und die zahlreichen physiologischen und physiologisch-chemischen, unsere Fragestellung berührenden Veröffentlichungen über Glycerin zusammenfassend dargestellt.

2. Wir beschrieben die Herstellung eines Di-Deuterio-Glycerins und haben ein Verfahren zur Gewinnung eines im mittleren C-Atom mit radioaktivem Kohlenstoff signierten Glycerins ausgearbeitet.

3. Ersteres haben wir im Hinblick auf die Bearbeitung verschiedener physiologisch-chemischer Probleme gewonnen und u. a. die Glykogenbildung aus Glycerin bei normalen und diabetischen Ratten untersucht.

4. Gesunde Tiere erhielten nach einer Hungerperiode von 48 Stunden einer normalen Nahrung beigemischt kleine Mengen Deuterio-Glycerin (ca. 18 Atom % D). Aus der Leber daraufhin isoliertes Glykogen erwies sich in allen Fällen als D-haltig, indem dieser 3-wertige Alkohol vom Organismus zum Aufbau tierischer Stärke verwendet werden kann. Ratten, bei denen durch Alloxan-Verabreichung Diabetes eintrat und welche demzufolge wesentliche Mengen Zucker mit dem Harn ausschieden, reagierten auf Gaben von Deuterio-Glycerin gleichfalls mit der Bildung von D-haltigem Glykogen. Es gelang hier somit die wesentliche Feststellung, dass bei der diabetogenen Erkrankung entgegen den allgemeinen Ansichten der Aufbau von Glykogen aus einer kleineren Einheit des Kohlehydratstoffwechsels, dem Glycerin bzw. dem phosphorylierten Glycerin nicht oder kaum gestört ist.

5. Verfüttertes Glycerin konnte auch in den Lipiden der Leber nachgewiesen werden. Es beteiligt sich demnach an der Veresterung der Leberfettsäuren.

6. Nachdem die Isotopentechnik eine erfolgreiche Erforschung der Resorptionsvorgänge in Aussicht stellt, wurden Versuche über das Ausmass der Hydrolyse bei der Resorption von Neutralfetten durchgeführt. Als Versuchstiere dienten dabei Ratten, denen im

Sinne des von Bollman angegebenen Verfahrens eine Kanüle in den Ductus thoracicus eingeführt und damit während vieler Stunden die Gewinnung der abfliessenden Lymphe möglich wurde. Verabreichung von im Glycerinanteil signiertem Fett führte stets zur Auffindung D-haltigen Neutralfettes in der Lymphe, was nach Fütterung von signiertem Glycerin nicht der Fall war. Glycerin wird als leicht wasserlösliche Verbindung offenbar rasch resorbiert oder direkt in der Darmwand schon verändert und verhält sich jedenfalls völlig anders als Neutralfett. Es dürfte demnach kein Zweifel bestehen, dass ein Teil des letzteren ungespalten oder nach partieller Spaltung (Di- oder Monoglyceride) zur Resorption gelangt.

7. Durch gleichzeitige Signierung des Fettsäure- und des Glycerinanteils vom Neutralfett wurde es möglich, das Ausmass der bei der Resorption eintretenden Spaltung zu bestimmen. Anhand einer Reihe durchgeführter Versuche stellten wir fest, dass bezogen auf das in der Lymphe erscheinende Neutralfett 24—53 % des aufgenommenen Fettes der völligen Hydrolyse unterlag.

8. Triacetin, das im Hinblick auf eine voraussichtlich längere Verweilzeit im Darne verabreicht wurde, verhielt sich wie Glycerin selber. Auch in Versuchen an Gallenfistelhunden, die infolge völliger Abwesenheit der Galle im Darm mit den Faeces vermehrtes Fett ausschieden, konnte keine Umesterung nachgewiesen werden, d. h. nach Verabreichung von D-Glycerin oder D-Triacetin enthielten die Faeceslipide kein Deuterium.

Literaturverzeichnis

- 1) Scheele, *Crells. chem. Journ.* 4, 190.
- 2) Cheuvreul, *Recherches sur les corps gras*.
- 3) Pelouze, *A.* 20, 46 (1836) u. *C. r.* 21, 718 (1845).
- 4) Berthelot, *Ann. chim.* (3) 41, 306 (1854).
- 5) Wurtz, *Ann. chim.* (3) 43, 492 (1855) und *A.* 102, 339 (1857).
- 6) Friedel, *Sylva, Bl.* (2) 20, 98 (1873).
- 7) Bloch, Erlenmeyer, Furger, *Helv.* 27, 414 (1944).
- 8) Piloty, *B.* 30, 3167 (1897).
- 9) Henry, *Bull. acad. belg.* (3) 30, 25.
- 10) Pictet, Barbier, *Helv.* 4, 924 (1921).
- 11) I. Neuberg, *Bioch. Z.* 255, 1 (1932).
- 12) Darzens, *C. r.* 198, 478 (1934).
- 13) Fichter, Metz, *Helv.* 19, 597 (1936).
- 14) Ohlsen, Kühn, Friedberg, *B.* 81, 540 (1948).
- 15) Erlenmeyer, Fischer, Bär, *Helv.* 20, 1012 (1937).
- 16) Favarger, Collet, Cherbuliez, *Helv.* 34, 1641 (1951).
- 17) Doerschuk, *Am. Soc.* 73, 821 (1951).
- 18) Schlenk, *Am. Soc.* 73, 5493 (1951).
- 19) Perewoznikoff, *Zentralbl. f. d. med. Wiss.* 14, 851 (1876).
- 20) Will, A., *Arch. f. d. ges. Physiol.* 20, 255 (1879).
- 21) Munk, *Virch. Arch.* 80, 10, 39 (1880).
- 22) R. Höber, *Arch. f. d. ges. Physiol.* 74, 246 (1899).
- 23) S. Levites, *Z. physiol. Ch.* 57, 46 (1908).
- 24) S. Leites, *Bioch. Z.* 184, 273 (1927).
- 25) Strack, *Ber. d. sächs. Ges. Wiss. math.-physikal. Kl.* 84, 129 (1932).
- 26) S. Freeman, Th. Friedemann, *J. Biol. Chem.* 108, 471 (1935).
- 27) L. Laszt, H. Süllmann, *Bioch. Z.* 278, 401 (1935).
- 28) R. Höber, J. Höber, *J. cell. comp. Physiol.* 10, 401 (1937).
- 29) Reiser, Bryson, Carr, Kuiken, *J. Biol. Ch.* 194, 131 (1952).
- 30) Munk, *Virch. Arch.* 76, 119 (1879).
- 31) L. Lewin, *Z. f. Biologie* 15, 243 (1879).
- 32) L. Arnschink, *Z. f. Biologie* 23, 413 (1886).
- 33) Arima, Takahasi, *Bull. agricult. chem. Soc. Jap.* 6, 1 (1931).
- 34) Johnson, Carlson, *Am. J. Physiol.* 103, 517 (1933).
- 35) Holck, *J. Am. med. Ass.* 109, 1517 (1937).
- 36) Berthelot, *Ann. chim.* (3) 50, 322 (1857).
- 37) Bertrand, *C. r.* 133, 878 (1901).
- 38) J. van Deen, *Arch. f. holl. Beiträge* 3, 25, 67 (1860).
- 39) J. Weiss, *Sitz. Ber. d. Wien. Akad.* 64, II, 284 (1871).
- 40) B. Luchsinger, *Arch. f. d. ges. Physiol.* 8, 289 (1874).
- 41) B. Luchsinger, *Dissertation Zürich* 1875.

- 42) Külz, Beiträge zur Therapie und Pathologie des Diabetes mellitus, Bd. 2, Marburg 1875, S. 181.
- 43) Ustimowitsch, Arch. f. d. ges. Physiol. 13, 453 (1876).
- 44) Salomon, Virch. Arch. 61, 344 (1874).
- 45) Frerichs E., Zur Glykogenbildung in der Leber, Würzburg 1876.
- 46) B. Finn, Diss. Erlangen 1877.
- 47) P. Plosz, Arch. f. d. ges. Physiol. 16, 153 (1878).
- 48) F. Hirschfeld, Z. f. klin. Med. 28, 204 (1895).
- 49) M. Cremer, Münch. Med. Wschr. 49, 944 (1902).
- 50) J. Schmid, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 53, 429 (1905).
- 51) G. Satta, Beitr. z. chem. Physiol. 6, 376 (1905).
- 52) Voegtlin, Dunn, Thompson, Am. J. Physiol. 71, 574 (1925).
- 53) Catron, Lewis, J. Biol. Chem. 84, 553 (1929).
- 54) J. Ferber, S. Rabinowitsch, Am. J. med. Sci. 177, 827 (1929).
- 55) Drury, Salter, Am. J. Physiol. 107, 409 (1934).
- 56) Koike, J. Biochem. (Jap.) 19, 111 (1934) C. 34, II, 797
- 57) Shapiro, J. Biol. Chem. 108, 373 (1935).
- 58) Lederer, Rev. belge Sci. med. 8, 373 (1936).
- 59) Doerschuk, J. Biol. Chem. 193, 39 (1951).
- 60) Rumpf, Untersuchungen über Diabetes mellitus, Berlin 1902.
- 61) Von Noorden, Die Zuckerkrankheit und ihre Behandlung, Berlin 1898.
- 62) Rosenqvist, Berl. klin. Wschr. 28, 612 (1899).
- 63) Umber, Z. f. klin. Med. 39, 13 (1900).
- 64) Hartogh, Schumm, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 45, 570 (1901).
- 65) H. Deuel, J. Butts, H. Blunden, C. Cutler, L. Knott, J. Biol. Chem. 117, 119 (1937).
- 66) F. Reach, Bioch. Z. 14, 278 (1908).
- 67) Haehn, Kintoff, Wchschr. f. Brauerei 42, 213 (1925).
- 68) McCarter, Am. Soc. 73, 483 (1951).
- 69) Balmain, Folley, Glycock, Biochem. J. 50, xxiv (1952).
- 70) Nicloux M., C. r. 136, 559 (1902).
- 71) Nicloux M., C. r. 136, 1576 (1902).
- 72) Nicloux M., C. r. 137, 70 (1903).
- 73) E. Holst, Acta physiol. scand. 7, 69 (1944).
- 74) N. Tschirwinski, Z. f. Biologie 15, 252 (1879).
- 75) Sotnitschewski, Z. physiol. Ch. 4, 214 (1880).
- 76) H. Leo, Arch. f. d. ges. Physiol. 93, 269 (1902).
- 77) H. Leo, Berl. klin. Wschr. 39, 1141 (1902).
- 78) Sveinson S., Acta physiol. scand. 15, 322 (1948).
- 79) I. Simon, Arch. farm. sperim. 30, 81, 102 (1920).
- 80) F. Maignon, Ch. Grandclaude, C. r. 190, 890 (1930).
- 81) C. Pfeiffer, I. Arno, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 37, 467 (1937).
- 82) W. Deuchmann, Indust. Med. 10, Indust. Hyg. Sect. 2, 5 (1941).
- 83) O. Schultzen, Berl. klin. Wschr. 9, 417 (1872).
- 84) Harrow, Power, Sherwin, Proc. exp. Biol. Med. 24, 422 (1927).
- 85) E. Salkowski, Z. physiol. Ch. 104, 161 (1919).
- 86) H. Krebs, K. Henseleit, Z. f. physiol. Ch. 210, 47 (1932).
- 87) W. Schuler, W. Reindel, Z. physiol. Ch. 221, 209 (1933).
- 88) K. Bernhauer, K. Schön, Z. physiol. Ch. 177, 107 (1928).
- 89) A. Virtanen, M. Nordlund, Biochem. J. 27, 422 (1933).
- 90) Lüthje, Arch. f. klin. Med. 80, 99 (1904).
- 91) G. P. Grabfield, Swanson D., J. Pharm. exp. Ther. 74, 106 (1942).
- 92) L. Mohr, Z. f. klin. Med. 52, 337 (1904).

- 93) Chambers, Deuel, J. Biol. Chem. 65, 21 (1925).
- 94) Heyningen, Rittenberg, Schönheimer, J. Biol. Chem. 125, 495 (1938).
- 95) Darzens, C. r. 225, 942 (1947).
- 96) Schmidt, Wilkendorf, B. 52, 389 (1919).
- 97) D. Stetten u. G. E. Boxer, J. Biol. Chem. 156, 271 (1944).
- 98) D. Stetten, I. D. Welt, D. J. Ingle, E. H. Morley, J. Biol. Chem. 192, 817 (1951).
- 99) K. Bernhard, Helv. physiol. pharmacol. acta 6, 826 (1948).
- 100) K. Bernhard, E. Schläpfer und S. Wilk, Helv. physiol. pharmacol. acta 7, 189 (1949).
- 101) K. Bernhard und F. Bullet, Helv. 30, 1784 (1947).
- 102) E. J. Masoro, I. L. Chaikoff u. W. G. Dauben, J. Biol. Chem. 179, 1117 (1949).
- 103) G. Popjak u. M. L. Beekmans, Biochem. J. 47, 233 (1950).
- 104) J. L. Bollman, J. C. Cain, u. J. H. Grindlay, J. Lab. Clin. Med. 33, 1349 (1948).
- 105) B. Bloom, I. L. Chaikoff, W. O. Reinhardt, C. E. Entenman und W. G. Dauben, J. Biol. Chem. 184, 1 (1950).
- 106) S. Bergström, B. Borgström u. M. Rottenberg, Acta Physiol. Scandinavica 25, 120 (1952).
- 107) B. Borström, Acta Physiol. Scandinavica 25, 291, 315, 328 (1952).
- 108) K. Bernhard, G. Ritzel u. E. Hug, Helv. physiol. pharmacol. acta 10, 68 (1952).
- 109) Arndt, B. 61, 1122 (1928).
- 110) H. O. L. Fischer, B. Gohlke, Helv. 16, 1132 (1933).
- 111) Feuge, Kraemer, Bailey, Oil and Soap 22, 202 (1945).
- 112) D. Stetten, G. E. Boxer, J. Biol. Chem. 155, 231 (1944).
- 113) L. C. Terriere, J. S. Butts, J. Biol. Chem. 190, 2 (1951).
- 114) J. L. Bollman, J. C. Cain, J. H. Grindlay, J. Lab. Clin. Med. 33, 1349 (1948).
- 115) Schönheimer, J. Biol. Chem. 111, 169 (1935).
- 116) A. C. Frazer, Physiol. Rev. 26, 103 (1946).
- 117) Chaikoff, Bloom, Stevens, Reinhardt, Dauben, J. Biol. Chem. 190, 431 (1951).
- 118) F. Verzar, E. J. Mc. Daugall, Absorption from the intestine, Longmans, Green and Co., London, 1936.
- 119) Brady, Gurin, J. Biol. Chem. 187, 589 (1950).
- 120) Chaikoff, Chernik, J. Biol. Chem. 188, 389 (1951).
- 121) Chernik, Chaikoff, Abraham, J. Biol. Chem. 193, 793 (1951).
- 122) Osborn, Chaikoff, Felts, J. Biol. Chem. 193, 549 (1951).
- 123) Felts, Chaikoff, Osborn, J. Biol. Chem. 193, 557 (1951).

Curriculum vitae

Am 23. August 1926 bin ich, Heribert Wagner als Sohn des Malermeisters Josef Wagner und der Helene geb. Fränkle, in Ravensburg, Württemberg geboren. Ich besitze die deutsche Staatsangehörigkeit. Seit 1941 ist mein Vater verstorben und meine Mutter ist in Ravensburg ansässig.

Von 1937—1946 besuchte ich die Oberschule in Ravensburg (1943—1945 Unterbrechung wegen Militärdienst) und habe im Frühjahr die Reiferprüfung mit der Gesamtnote «befriedigend» bestanden. Im Sommersemester 1946 begann ich meine Studien an der Universität Freiburg im Breisgau und setzte sie im Wintersemester 1946/47 an der Universität Basel fort.

Bei folgenden Dozenten habe ich Vorlesungen und Praktika besucht: Staudinger, Oehlkers, Brauer, Bogen, Portmann, Erlenmeyer, Huber, Schlittler, Miescher, Buchner, Geiger-Huber, H. Kuhn, W. Kuhn, Reichstein, Wizinger, Mohler, Grob, Rothlin, Bernhard, Brenner, Verzàr, Sorkin.

Die Dissertation ist unter der Leitung von Prof. Dr. Karl Bernhard im Physiologisch-chemischen Institut der Universität Basel entstanden.

